

# Plantefysiologi - plantenes stoffomsetning, vekst og utvikling

© Halvor Aarnes 2002. Sist oppdatert 2009. S.E. & O.

## Innholdsfortegnelse

Fotosyntesens lysreaksjon .....	5
Fotosyntesens karbonreaksjon: CO <sub>2</sub> assimilasjon i planter .....	25
C4-fotosyntese .....	32
CAM-fotosyntese .....	36
Fotorespirasjon .....	37
Floemtransport av fotosynteseprodukter .....	50
Respirasjon .....	52
Glykolyse - fra glukose til pyruvat .....	54
Fermentering .....	57
Trikarboksylsyresyklus i mitokondrier .....	58
Cyanidresistent respirasjon (alternativ oksidase) .....	62
Oksidativ pentosefosfatvei .....	63
Glukoneogenese - baklengs glykolyse .....	64
Fett (lipider) .....	64
Spiring av fettfrø - fra fett til sukker .....	66
Fettsyresyntese .....	67
Jord, vann og vanntransport .....	71
Vannpotensial – vannets evne til å utføre arbeid .....	74
Trykkdrevet massestrøm .....	78
Adhesjon- kohesjon-tensjon teorien .....	79
Rottrykk og guttasjon .....	86
Floemtransport (translokasjon): .....	88
fra kilde til brukssted .....	88
Mineralnæring .....	97
Assimilasjon av grunnstoffer .....	112
Biologisk nitrogenfiksering .....	117
Aminosyremetabolisme .....	145
Sekundærmetabolisme .....	148

Plantehormoner .....	168
Auxiner .....	170
Gibberelliner .....	184
Cytokininer .....	193
Abscisinsyre (ABA) .....	198
Etylen .....	204
Brassinosteroider .....	210
Salicylsyre .....	212
Jasmonat - fra linolensyre .....	213
Vekst og utvikling .....	218
Frøhvile og knopphvile .....	218
Frøspiring .....	222
Plantekroppen .....	226
Membraner: fosfolipider og protein .....	231
Vekst av celler .....	232
Sentralvakuole .....	233
Endoplasmatisk retikulum - et dynamisk membran-nettverk .....	234
Golgiapparat .....	234
Plastider .....	235
Cellekjernen - informasjon og DNA .....	237
Mitokondrier og respirasjon .....	238
Peroksysomer, glyoksysomer og oleosomer .....	238
Plasmodesmata .....	239
Cytoskjelett og motorproteiner .....	240
Meristemer .....	244
Blad konstruert for fotosyntese .....	252
Røtter .....	254
Stengel .....	256
Blomst - reproduksjonsorgan .....	257
Embryogenese .....	262
Frukt og frukttyper .....	265
Fotoperiodisitet og blomstring .....	270
Vernalisering - lav temperatur og blomstring .....	274
Blomstring og reproduksjon .....	279

Frøutvikling .....	281
Fotomorfogenese - lys bestemmer form .....	284
Fytokrom .....	285
Kryptokrom, fototropin, UVB-reseptor og zeaxanthin .....	291
Vekstbevegelser .....	295
Økofysiologi .....	301
Frostskader- iskrytaller og dehydrering (frosttørke).....	302
Saltplanter - halofytter .....	309
Tørkestress .....	310
Oversvømt jord .....	312
Solplanter og skyggeplanter.....	313
Klatring, greining og bladplassering - kamp om lys og plass.....	317
Kjøttspisende planter .....	318
Sykdom og symbiose - en balansegang .....	320
Høstfarger og nedbrytning av klorofyll .....	326
Ultrafiolett stråling .....	327
Oksidativt stress.....	328
Prokaryoter og mikronæringsnett.....	330
Cellens molekylærbiologi.....	337
Økologiske målinger .....	345

## Innledning

*"Borte i Skogkanten staar Bregner og Stormhat; Melbærlyngen blomstrer og jeg elsker dens smaa Blomster. Tak min Gud, for hver Lyngblomst jeg har set; de har været som smaa Roser paa min Vei og jeg graater av Kjærlighet til dem. Et eller andet Sted i Nærheten er vild Nellik, jeg ser den ikke, men jeg fornemmer dens Duft. Men nu i Nattens Timer har pludselig store, hvite Blomster utfoldet sig i Skogen, deres Ar staar aapne, de aander. Og lodne Tusmørkesværmere Sænker sig ned i deres Blade og bringer hele Planten til at skjæelve. Jeg gaar fra den ene til den andre Blomst, de er berusede, det er kjønslig berusede Blomster og jeg ser hvorledes de beruses".* Fra Knut Hamsun: *Mysterier*

Plantene varierer i størrelse fra mikroskopisk encellede til de største organismene på

jorda, og de kan fange opp og lagre solenergi (unntatt parasittplanter som mangler klorofyll). Det er plantene som sørger for næring til omtrent alt liv på jorda.

Menneskene er helt avhengig av plantene i land-, skog- og hagebruk og av naturlig vegetasjon. Plantene gir oss mat, klær, husly, møbler, medisiner, krydder, papir og musikkinstrumenter. Blomster og vegetasjon gir oss estetisk nytelse. Tømmer, bambus, store blad og siv gir byggematerialer. Plantene gir naturfibre som bomull, lin, jute, hamp og ramie. Kulturplantene, spesielt kornslagene og erteplanter, karbohydratplanter som poteter, bananer og kassava, frukt og bær er mat for milliarder av mennesker. I tillegg til karbohydratene, vesentlig i form av stivelse, gir plantene oss protein med essensielle aminosyrer (bl.a. methionin og lysin), fett med essensielle umettede fettsyrer, vitaminer, antioksidanter (vitamin C, E og flavonoider), sukker, karotenoider, uorganiske makro- og mikronæringsstoffer og organiske syrer. Cellulose kan omdannes til papir, "kunstige" tøyfibre, og dispergeringsmidler. Pektin, stivelse og glukomannaner brukes til fortykningsmidler i næringsmiddelindustri. Plantene inneholder tusenvis av sekundærmetabolitter. Mange av disse stoffene danner grunnlaget for nytelsesmidler, krydder og medisiner: kaffe, te, tobakk, sjokolade, tobakk, pepper, muskat, ingefær, kanel, og nellik. I listen over medisiner og legemidler fra planteriket finnes morfin, kokain, kinin, og digitalis, og antikreftmidler som taxol og vinblastin. Lignin kan gi kunstig vanilje (vanillin). Økt kunnskap om menneskets ernæring har satt søkelyset på kostfiber som kommer fra plantenes cellevegger. Enkelte stoffer får spesiell omtale i mediene. F.eks. resveratrol, et stilben som finnes i skallet på røde druer og derav i rødvin; og fytoøstrogener f.eks. lignaner som secoisolariciresinol og matairesinol. Imidlertid er mange av de ville plantene svært giftige. Folks interesse for helsebringende remedier har gitt oppkomst av mange useriøse kommersielle aktører som forsøker å sko seg på folks uvitenhet. I Aftenposten (28.12.2005 og 5.1.2006) kunne man lese om inntak av kinesisk urtemedisin som inneholder planten *Aristolochia* og aristolochinsyre som gir nyreskader som ender i nyretransplantasjon.

Dyr kan forflytte seg eller endre atferd som resultat av miljøpåvirkninger. Plantene må ha et videre repertuar til å kunne respondere fysiologisk. Når dyr er ferdigutviklet stopper cellene å differensiere seg, mens plantene forsetter å være totipotente. Hos dyr lages reproduksjonsorganene tidlige i utviklingen, hos plantene seinere.

Gjennom biologisk evolusjon med stor grad av polyploidi, rekombinasjon, variasjon og naturlig utvalg, har plantene utviklet seg til det de er i dag, en utvikling uten noe bestemt mål og hensikt, annet enn adaptasjon og reproduksjon. Polyploidi vil si at det finnes flere kopier av hele genomet. Man har spekulert over om alle planter har en polyploid opprinnelse.

Plantene er blitt tilpasset å tåle forskjellige varierende klimatiske forhold og potensielt sykdomsframkallende organismer. Genetisk like monokulturer med nytteplanter er sterkt utsatt for skadelige insekter, sopp og virus. *Rhynia* var en plante som eksisterte for 400 millioner år siden. *Psilotum*, dikotomt forgreinet uten blad og røtter, er en av de mest primitive nålevende plantene.

Økosystemene er termodynamisk åpne systemer som det strømmer stoff og energi igjennom. Solenergien brukes til biomasseproduksjon, transportprosesser og

varmekilde. Ifølge Prigogine organiserer de biologiske systemene seg slik at entropiproduksjonen blir minimal. Genetiske forandringer som sørger for bedre bevaring av entropi kommer økosystemet til gode. Kokurransen mellom fotoautotrofe organismer følges av muligheten til å lage biomasse. Et tre fanger opp mer solenergi, har større assimilasjonsflate og dypere rotsystem enn en urtaktige planter.

## Fotosyntesens lysreaksjon

*"Alt livet er sol-kraft, sol-eld, skynar eg um natti. Når soli er burte, sloknar me".*  
Fra Arne Garborg: Den burtkomne Faderen.

## Grønne planter med vann som elektron- og protonkilde

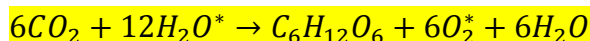
Fotosyntese er syntese ved bruk av lys. **Fotoautotrofe** organismer som grønne planter, alger og noen bakterier kan fange opp lysenergi som omdannes til kjemisk energi (ATP) og reduksjonskraft (NADPH) som blir brukt til reduksjon av karbondioksid i stroma. Omvandlingen av lysenergi skjer en thylakoidreaksjon i pigmentproteinkomplekser i fotosyntesemembranene i kloroplastene. Fotosyntesen hos planter skjer i kloroplaster (plastider) i mesofyllceller, hos prokaryotene i membraner. Kloroplastene har sin opprinnelse fra blågrønnbakterier tatt opp ved **primær endosymbiose**, ifølge endosymbiontteorien til Lynn Margulis (1980). Det er en ekstra membran rundt kloroplaster og mitokondrier etter invaginering av plasmamembranen. Noen alger inneholder bare en stor kloroplast per celle, men planter har mange små kloroplaster per celle og dette øker overflatearealet av kloroplastene. Blad fra tofrøbladete planter har kloroplaster i to lag: et øvre palisademesofyll og et nedre svampemesofyll. I en celle tar vakuloen ca. 70 % av volumet, kloroplastene 20 %, cytoplasma 6% og resten fordeles på cellevegg og kjerne. Kloroplastene hos høyere planter er omgitt av to membraner. Hos brunalger, diatoméer, gulgrønnalger, gullbrunalger, euglenoider, fureflagellater, og coccolitoforider er kloroplasten i tillegg omgitt av en kloroplast endoplasmatiske retikulum. Noe som indikerer at disse kloroplastene har sin opprinnelse fra **sekundær endosymbiose**. Flere alger i gruppen Protista har også evnen til å leve heterotroft.

Fotosyntesen deles i en **lysreaksjon** som skjer i tilknytning til thylakoidmembranene organisert i granalameller og stromalameller hvor det lages kjemisk energi (ATP), reduksjonskraft (NADPH) og oksygen ( $O_2$ ), og en **karbonreaksjon** i **stroma** hvor karbondioksid ( $CO_2$ ) reduseres til karbohydrater vha. ATP og NADPH. Lysenergi brukes til å oksidere vann og det er en lysdrevet elektrontransport via elektrondonorer og elektronakseptorer. Det var i 1771 at Joseph Priestley oppdaget at plantene produserer oksygen. I 1779 finner den nederlandske biologen Jan Ingenhousz at lys er nødvendig i fotosyntesen.

Robert Hill oppdaget i 1937 at isolerte kloroplaster i lys kunne redusere kunstige elektronmottakere (DCPIP (diklorfenolindofenol) eller  $Fe^{3+}$ ), samtidig med at det ble produsert oksygen. I fotosyntesen hos planter blir vann oksidert og gir elektroner,

protoner og oksygen.

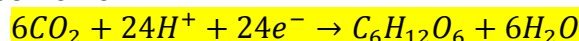
Ligningen for fotosyntese i nærvær av klorofyll og lys ( $h\nu$ ):



Ved hjelp av den tunge oksygenisotopen  $^{18}O$  i eksperimenter med henholdsvis karbondioksid og vann ble reaksjonen bekreftet, alle atomene i dioksygen kommer fra vann. I ligningen over er det satt opp karbohydrat ( $C_6H_{12}O_6$ ) som et produkt, men plantene lager også en hel masse andre produkter.

Anaerobe fotosyntetiske bakterier bruker sollys som energikilde for å lage organiske stoffer, men de bruker f.eks. hydrogensulfid ( $H_2S$ ) som elektron- og protonkilde istedet for vann. Hydrogensulfid blir oksidert til svovel. Det var mikrobiologen C. B. van Niels arbeider med fotosyntetiske bakterier som førte fram til konklusjonen om at oksygen kommer fra vann i fotosyntesen, ikke fra karbondioksid.

Fotosyntesen er en reduksjon (lagring av energi) ved å lagre elektroner og protoner som har sin opprinnelse fra vann.



Lagre energi	Frigi energi
Reduksjon	Oksidasjon
Motta elektroner ( $e^-$ )	Avgi elektroner ( $e^-$ )
Motta protoner ( $H^+$ )	Avgi protoner ( $H^+$ )
Avgi oksygen (O)	Motta oksygen (O)

Energi lagres i biologiske systemer ved reduksjon og energi frigis ved oksidasjon. En reduksjon vil si å motta elektroner og protoner eller å avgi oksygenatomer. En oksidasjon frigir energi, og det er det samme som å avgi elektroner og avgi protoner eller å motta oksygenatomer. Reduksjonen skjer i kloroplastene hvor elektroner og protoner fra vann lagres i organiske forbindelser. Energien frigis i mitokondrier hvor elektroner og protoner i organiske molekyler føres tilbake til oksygen og det dannes vann. Ringen er sluttet.

## Lys

Lys er elektromagnetisk bølge med et oscillerende elektrisk og magnetisk felt. Lys har en dualisme og kan betraktes både som bølge og partikkel. Et foton (kvant, lyspartikkel) har en bestemt (diskret) mengde energi ( $E$ ):

$$E = h\nu$$

hvor  $h$  er Plancks konstant =  $6.626 \cdot 10^{-34}$  J s, og  $\nu$  = svingninger per sekund ( $s^{-1}$ ). Lysenergien er omvendt proporsjonal med bølgelengden

$$E = \frac{hc}{\lambda}$$

hvor  $\lambda$  er bølgelengden og  $c$  er lyshastigheten =  $3 \cdot 10^8$  m s<sup>-1</sup>. Bølgelengden er avstanden mellom to bølgetopper.

Oftest angis energien til et mol fotoner ( $N$ ) som er lik Avogadros tall =  $6.022 \cdot 10^{23}$

$$E = N \frac{hc}{\lambda}$$

Sollys er en strøm av fotoner med forskjellig frekvens. Representative bølgelengder i nanometer (nm) for de forskjellige fargene i lysspekteret (ROGGBIF) slik de oppfattes av vår hjerne er gitt i parentes: rød (660 nm), oransje (610 nm), gul (570nm), grønn (520 nm), blå (470 nm), indigo (430 nm) og fiolett (410 nm).

## Klorofyll – og lysabsorpsjon

Sollys absorberes av pigmenter i membraner. Det grønnfargete klorofyllmolekylet består av et vannelskende (hydrofilt) hode i form av en flat tetrapyrrolring (porfyrin). Sentralt i tetrapyrrolringen sitter et chelatert magnesium ( $Mg^{2+}$ ). Til ringen er det festet et lang vannskyende (hydrofob) fytolhale bygget opp av isopren. Fytolhalen fester klorofyllmolekylet til det indre av thylakoidmembranene i kloroplasten, omgitt av proteiner. Klorofyll finnes i flere former. Klorofyll b er et gulgrønt hjelpepigment (antennepigment, aksessorisk pigment) som er litt forskjellig fra det blågrønne klorofyll a. En metylgruppe ( $-CH_3$ ) i ring B i klorofyll a er erstattet med en aldehydgruppe ( $-CHO$ ) i klorofyll b. Planter og blågrønnbakterier inneholder klorofyll a og b. Protister inneholder klorofyll a, c og d. Bakterier inneholder bakterieklorofyll a.

Det har skjedd en evolusjon av forskjellige antennesystemer. Fotosyntetiske bakterier har 20-30 bakterieklorofyll per reaksjonssenter. Høyere planter har 200-300 klorofyllmolekyler per reaksjonssenter. Noen bakterier og alger kan ha 100 klorofyllmolekyler per reaksjonssenter.

Arter fra *Archaeplastidae* ga under evolusjonen opphav til grønnalger og landplanter som inneholder klorofyll og stivelse i plastider (*Chloroplastidae*, *Viridiplantae*). En annen utviklingslinje gikk til rødalger (*Rhodophyta*) med fykobiliproteiner og lagring av stivelse i cytoplasma. *Glaucophytae* inneholder encellede grønnalger med cyaneller, som er blågrønnbakterielignende plastider. Disse lagrer også stivelse i cytoplasma.

$\pi$ ( $\pi$ )-elektroner i alternerende karbon=karbon dobbeltbindinger i klorofyll kan bli eksitert av lys. Selv om vi tegner det slik er ikke elektronene permanent i dobbeltbindingen. Dette er en viktig egenskap når klorofyllmolekylet tar opp lysenergi og blir eksitert. Klorofyll fanger opp blå og røde fotoner, og de grønne blir tatt opp i noe mindre grad. Dette gjenspeiles i et **absorpsjonsspektrum** for klorofyll målt i et spektrofotometer. Absorpsjonsspekteret viser hvor effektive og i hvilken grad de forskjellige bølglengdene av lyset eksiterer klorofyll. Den oppsamlede eksitasjonsenergi overføres til reaksjonssenterklorofyll i to fotosystemer, II og I. Et **aksjonsspekter** angir størrelsen på responsen i et biologisk system som funksjonen til bølglengden til lys. Responsen i aksjonsspekteret for fotosyntesen er produksjon

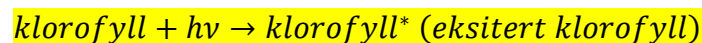
av oksygen, eller opptak av karbondioksid. Det gis like mange kvanter i de forskjellige delene av spektret. Ved å sammenligne absorpsjonsspekteret med aksjonsspekteret er det mulig å identifisere hvilke kromoforer som deltar i et lysindusert fenomen. Det første aksjonsspekteret for fotosyntesen ble laget av T.W. Engelmann hvor han satte et lite prisme i et mikroskop slik at det ble et lysspekter som han kunne belyse en trådformet grønnalge (*Spirogyra*). Algen var sammen med bevegelige oksygenelskende aerotaktiske bakterier som oppsøker områder med mye oksygen. Engelmann kunne vise at bakteriene samlet seg i områdene rundt grønnalgen som mottok rødt og blått lys, og det var færre bakterier rundt algen i det grønne området av spekteret.

Gulfaragete **karotenoider** er C40-forbindelser med konjugerte dobbeltbindinger som absorberer lys med bølgelengder 400-500 nm. Karotenoidenes hovedoppgave er fotobeskyttelse i fotosyntesen, ved å kvenskje eksitasjonsenergi fra klorofyll, men de kan også virke som et aksessorisk pigment.

## Absorpsjon av lys og produksjon av kjemisk energi

"Av måneskinn gror det ingenting". Torborg Nedreaas (1947).

Fotosyntesen skjer i et kompleks som inneholder lyshøstende antennepigmenter og to reaksjonssentere. Mesteparten av pigmentene i antennekomplekset samler lysenergi og overfører det til reaksjonssenterkomplekser II og I. Klorofyll omgitt av proteinkomplekser i thylakoidmembranene fanger opp lys, ved å gå fra en **grunntilstand** til et **eksitert nivå** hvor et pi-elektron i klorofyllmolekyl går til et høyere orbital. Både grunnnivå og eksitert nivå har flere energinivåer som skylder rotasjoner og vibrasjoner i klorofyllmolekylet, noe som gir brede absorpsjonsbånd. Rødt lys kan eksitere klorofyll til **1. singlett** og blått lys eksiterer til **2. singlett**.



Eksiterte singlettnivåer har et elektronpar med antiparallele spin.

Det er en lav forekomst av **triplett klorofyll** med et elektronpar med parallelle spin, som har lenger levetid og lavere energi enn singlett klorofyll.

Eksiterte klorofyll er meget ustabil, faller ned til grunntilstanden i løpet av  $10^{-9}$  sekund og avgir eksitasjonsenergien i form av varme eller utsendelse av et foton som fluorescens med lenger bølgelengde enn det lyset som ble absorbert.

Eksitasjonsenergien kan overføres til et klorofyllmolekyl i nærheten ved **fluorescens resonansoverføring** (jfr. to stemmegafler ved siden av hverandre). I fotokjemi inngår eksitasjonsenergien meget raskt i en kjemisk reaksjon. Reaksjoner i form av fluorescens skjer i løpet av nanosekunder ( $10^{-9}$  s), mens fotokjemi kan skje i løpet av picosekunder ( $10^{-12}$  s).

Fotosyntetiske anaerobe bakterier har bare ett fotosystem, enten I eller II. Grønne svovelbakterier og heliobakterier inneholder fotosystem I (FSI), mens purpurbakterier har et fotosystem som ligner fotosystem II (FSII). Under evolusjonen har det skjedd



en symbiose mellom disse to typer fotosyntetiske bakterier og dette har gitt opphav en til form for fotosyntese hvor vann brukes som elektron- og protonkilde. Dette ga en revolusjon i utviklingen av livet på jorda, siden biproduktet oksygen kan brukes som elektronakseptor og frigir derved store mengder energi under respirasjonen.

Reaksjonssenteret i fotosystem II (RCII) er et multisubenhets pigment-proteinkompleks (inneholder D1, D2, plastokinon, klorofyll, feofytin cytokrom  $cytb_{559}$ ). Kjernen i reaksjonssenteret i fotosystem II består av membranproteinene D1 og D2.

Lyseksitasjonsenergien i et klorofyllmolekyl blir overført til et **reaksjonssenterklorofyll** (P680 i fotosystem II og P700 i fotosystem I, P=pigment), og det skjer en **ladningsseparasjon** ved at elektron overføres fra eksitert reaksjonssenterklorofyll til en elektronakseptor. Elektronene beveger seg gjennom en tunnel jfr. Marcus-teori. Hos planter er denne elektronakseptoren **feofytin**, et klorofyllmolekyl uten chelatert magnesium ( $-Mg^{2+}$ ,  $+2H^+$ ). Når reaksjonssenterklorofyll har avgitt et elektron blir det en kraftig oksidant ( $P680^+$ ) som mottar et elektron fra vann, som erstatter det elektronet som ble avgitt. Hos planter er det to fotosystemer som er en del av en **elektrontransportkjede**. Elektronene fraktes med elektrontransportører (plastokinon, cytokrom  $b_6f$  og plastocyanin), som er koblet til protontransport over fotosyntesemembranen. Proton- og ladningsgradienten brukes til å lage ATP, og lysenergien blir lagret som fosfatesterbinding, og som reduksjonskraft i form av NADPH (NADH hos noen fotosyntetiske bakterier). Lysenergien som blir omformet til kjemisk energi i fotosyntesen brukes til å assimilere og redusere karbondioksid i karbonreaksjonen via reduktiv pentosefosfatvei (Calvin-syklus). Molekyler med et uparret elektron kan registreres. Superraske glimt med laserlys gjør det mulig å studere den raske reaksjonskinetikken hvor ladningsseparasjonen skjer i løpet av pikosekunder. Elektronoverføringen skjer uavhengig av temperaturen, kan foregå i flytende helium (4K) og studeres med elektronspin resonans spektroskopi (ESR).

Hvilke fotosyntesepigmenter som deltar, type reaksjonssentere, og redoksforandringer, varierer med type fotosyntese.

Den halofile bakterien *Halobacterium halobium* har et fotosyntesepigment, **bakterierhodopsin**, som ligner på rhodopsin i vårt øye. Bakterierhodopsin frakter ikke elektroner, men lager ATP ved hjelp av en bakterierhodopsin protonpumpe. Purpurbakterier har reaksjonssenterklorofyll P870, og generelt absorberer bakterieklorofyll lenger ut i den nære infrarøde delen av spekteret. Tilsvarende de kinonbindende proteinene D1 og D2 i høyere planter har purpurproteinene kinonbindende proteiner L og M.

## Lysabsorpsjon og elektrontransport i thylakoidmembraner

Den fotosyntetiske lysreaksjon består av samvirke mellom elektronbærere, enzymer og pigmenter. Elektroner fraktes over et større spenn i redokspotensial i fotosyntesen hos planter, alger og blågrønnbakterier enn hos anaerobe fotoautotrofe bakterier. Fotosystem II og I henger sammen med en serie av elektronbærere i et **Z-skjema** forslått av Hill og medarbeidere på begynnelsen av 1960-tallet.

Elektroner overføres fra vann til ferredoksin, den første stabile redoksforbindelsen. Ferredoksin i redusert tilstand har med sitt negative potensial (-0.43 V) mulighet til å redusere NADP<sup>+</sup>.

I bakterier skjer fotosyntesen ved innfoldinger av cellemembranen. Hos eukaryotene skjer fotosyntesen i plastider kalt **kloroplaster**. Inne i kloroplastene er det stabler med **thylakoidmembraner** som danner **grana**. Det finnes forskjellige typer klorofyll. Klorofyll a, b, c og bakterieklorofyll. Klorofyll ligner strukturelt på hem, men har magnesium chelatert i midten av tetrapyrrollmolekylet istedet for jern. I tillegg er det en pentanonring og en fytolsidekjede som sitter bundet med en esterbinding til karbonatom C7 i tetrapyrrollkjernen i klorofyll a og b. En liten andel av klorofyllene utgjøres av reaksjonssenterklorofyll som virker som en felle for lysenergien. De andre virker som lyshøstende klorofyll, kalt **antennepigmenter**, spesielt klorofyll b. Det er ca. 250 klorofyllmolekyler per reaksjonssenter som virker som nedslagsfelt for lysenergi. Molekylene må ligge nær inntil hverandre for å få til en effektiv overføring av energi. Reaksjonssenteret absorberer ved lengre bølgelengde enn antennene.

Overføringen av eksitasjonsenergi mellom klorofyllmolekylene skjer ikke ved at lyskvantet hopper fra molekyl til molekyl, men ved at eksitasjonsenergien er felles eiendom og den beveger seg tilfeldig fra molekyl til molekyl fram til reaksjonssenteret. Overføringen av eksitasjonsenergi skjer ved **induktiv resonans**, fluorescens resonans energioverføring. Når et pigment har mottatt lysenergien fra et lyskvant blir det **eksitert**. Det eksiterte molekylet vibrerer og det skjer resonansoverføring mellom molekyler med overlappende absorpsjonsbånd ved en dipol-dipol interaksjon. Oscillasjons- og vibrasjonsenergien overføres til neste molekyl. Vibrasjonsfrekvens, avstand og orientering av klorofyllmolekylene gir overføring av 95-99% av energien som er overført. Det er ikke elektronene som flytter seg, men den absorberte lysenergien, helt til man kommer til et **reaksjonssenterklorofyll**.

Reaksjonssenterklorofyllene angis med bokstaven P og ved den bølgelengden de har maksimal absorpsjon. P<sub>680</sub> for fotosystem II og P<sub>700</sub> for fotosystem I.

Reaksjonssenterklorofyll er en dimer, et spesielt par f.eks. P<sub>865</sub> hos den fotosyntetiske bakterien *Rhodobacter sphaeroides*. Michel, Deisenhofer og Huber fikk nobelprisen i kjemi i 1988 for røntgenkrystallografiske studier av reaksjonssenteret hos den fotosyntetiske purpurbakterien *Rhodospseudomonas viridis*, en modell for fotosystem II i planter. Studier av oksiderte og reduserte former av molekyler gjøres med spektroskopiske teknikker hvor man ser på den bølgelengden som gir størst oksidasjon i lys. Lysenergi absorberes i høyere planter av to fotosystemer, **fotosystem II** (PSII) og **fotosystem I** (PSI) omgitt av lyshøstende klorofyll, membranproteiner og elektrontransporterende systemer (elektrontrapp). I hvert av disse fotosystemene er det mellom 400 og 500 klorofyllmolekyler og hjelpepigmenter i antennekomplekser som virker som en antennetrakt og overfører lysenergien til **reaksjonssenterklorofyll P680** i fotosystem II, og **reaksjonssenterklorofyll P700** ved fotosystem I i thylakoidmembranen. En oksidasjons-reduksjonsprosess i reaksjonssenteret gir lagring av energi. I fotosystem II oksideres to vannmolekyler ad gangen til ett oksygenmolekyl, fire elektroner og fire protoner, samtidig med at fire manganatomer skifter valens. I begge fotosystemene vil absorpsjon av lysenergi indusere utsendelse og oppoverbakettransport av elektroner. P680 (sterk oksidant)

blir eksitert til P680\* som er en kraftig elektrondonor (svak reduktant). P700 blir eksitert til P700\*.

Det er fire hovedkomplekser: Fotosystem II i granastablene, cytokrom  $b_6f$  jevnt fordelt mellom granathylakoider og stromathylakoider, fotosystem I og F-ATP syntase i de ustabilete stromathylakoidene



Kjernen i reaksjonssenter II (PSII) utgjøres av D1- og D2-proteinene med sine kinoner. Forkortelsen D har de fått fra det diffuse forløpet disse proteinene viser under gelelektroforese. Assosiert eller bundet til D1/D2 proteinene er reaksjonssenterklorofyll P680, plastokinoner, feofytin, jern ( $Fe^{2+}$ ), mangan ( $Mn^{2+}$ ), kalsium ( $Ca^{2+}$ ) og klorid ( $Cl^-$ ). Plastokinon  $Q_A$  er bundet til D2-proteinet og  $Q_B$  er bundet til D1-proteinet. D1-proteinet omsettes raskt og brytes ned av en protease for deretter å bli bygget opp på nytt. Feofytin er et spesialisert klorofyllmolekyl som mangler  $Mg^{2+}$  i tetrapyrrollkjernen og er bundet til D1-proteinet. Hos fotosyntetiske bakterier er den en symmetri i hvordan reaksjonssenterklorofyll, feofytin og kinoner er organisert. Elektronet går fra enelektrontransportøren  $PQ_A$  over til toelektrontransportøren  $PQ_B$ . Kinoner kan frakte to elektroner og to protoner ad gangen. Plastokinon inneholder et kinon og en hydrofob hale som fester det til membranen. I redusert tilstand er kinonet et hydrokinon ( $PQH_2$ ).  $PQ_B^{2-}$  stabiliseres ved å binde to protoner fra stromasiden av thylakoidmembranen slik at det dannes et plastohydrokinon  $PQ_BH_2$ .  $PQ_BH_2$  kan diffundere i membranen og avgi elektroner til cytokrom  $b_6/f$ -komplekset. CP43 og CP47 er klorofyll ab bindende proteiner i tilknytning til reaksjonssenteret.

Grunntilstanden av klorofyllmolekylet er en singlett med elektronene i par med motsatt spin i ytre orbital, med totalt spinkvantetall lik 0. Absorpsjon av lysenergi hever et elektron fra banen nærmest klorofyllmolekylet (grunntilstanden) til et eksitert nivå. Elektronspinnene er fremdeles i par. Det eksiterte reaksjonssenterklorofyll P680 overføres raskt sitt elektron til **feofytin** og videre til **plastokinon  $PQ_A$**  festet til et kinonbindende protein D2, slik at det blir en **ladningsseparasjon**. Derved hindres elektronet i å hoppe tilbake der det kom fra. Elektronet går videre til **plastokinon  $PQ_B$**  bundet til proteinet D1. Lysenergien er derved fanget.

To elektroner fra  $PQ_A$  reduserer  $PQ_B$  til  $PQ_B^{2-}$  som tar opp  $2H^+$  fra stroma og gir  $PQ_BH_2$ . Plastohydrokinon ( $PQ_BH_2$ ) kan diffundere i thylakoidmembranen.  $PQH_2$  dissosierer fra reaksjonssenteret og elektroner overføres til cytokrom  $cytb_6f$ . Cytokrom  $b_6f$  oksiderer plastohydrokinon ( $PQH_2$ ) og leverer elektroner til fotosystem I (PSI). Oksidasjon av  $PQH_2$  er koblet til transport av  $H^+$  til lumen. ATP syntase lager ATP når  $H^+$  fraktes fra lumen til stroma.

Reaksjonssenterklorofyllet ( $P680^+$ ) som har avgitt sitt elektron virker som en kraftig oksidant, og grabber et elektron fra vann som er et nærliggende donormolekyl. Oksidert stadium av klorofyll mister rødabsorpsjonen og blir bleket. Elektronene blir overført fra vann til plastokinon katalysert av enzymet vann-plastokinon oksidoreduktase. Første trinnet i den fotokjemiske prosessen med energilagring er en

oksidasjons-reduksjonsreaksjon. **Cytokrom b<sub>6</sub>f** binder sammen fotosystem II og I, består av jern-svovelprotein (Rieske) og overfører elektroner fra redusert plastokinon (PQH<sub>2</sub>) til oksidert plastocyanin, og ligner således på cytokrom *bc<sub>1</sub>* i kompleks III i respirasjonskjeden i mitokondriene.

Cytokrom b<sub>6</sub>f er et stort proteinkompleks som inneholder: 2 hem b ikke-kovalent bundet, 1 hem c (cytf) kovalent festet til et peptid, inkludert Rieske Fe-S-proteiner (2Fe i bro med S (FeS<sub>R</sub>)), klorofyll, karotenoid, hem. Elektroner og protoner fraktes gjennom komplekset (Q-syklus). PQH<sub>2</sub> er et lite ikke-polart molekyl, og kan fjerne seg fra reaksjonssenteret. Når to molekyler PQH<sub>2</sub> oksideres går to elektroner til PSI og 4H<sup>+</sup> gjennom membranen. FeS<sub>R</sub> mottar elektroner fra PQH<sub>2</sub> og overfører dem til cytf og derfra går de til **plastocyanin** (PC) og videre til PSI og P700. Vannløselig plastocyanin befinner seg mot lumen-siden av thylakoidmembranen. Hos blågrønnbakterier er det en c-type cytokrom som har funksjonen til plastocyanin.

*PSI → klorofyll A<sub>0</sub> → fyllokinon A<sub>1</sub> → FeS<sub>x</sub> → ferredoksin → NADPH*

Fotosystem I (PSI) reduserer NADP<sup>+</sup> til NADPH i stroma via ferredoksin og enzymet flavoprotein-ferredoksin NADP reduktase.

Fra P700 går elektronene videre til klorofyll a, fyllokinon, jern-svovelproteiner og til det vannløselige jern-svovelproteinet **ferredoksin** som brukes til å redusere NADP<sup>+</sup>. P700 får elektroner fra redusert plastocyanin.

Det er ca. 100 klorofyllmolekyler tilknyttet reaksjonssenteret (RC1) i fotosystem I. Antenneklorofyll og P700 er bundet til proteiner: PsaA og PsaB. De reduserte elektronbærere er ustabile. **Fyllokinon** er et kinon i PSI og dette fungerer som vitamin K1 hos mennesker. Det er jern-svovel-sentre FeS<sub>x</sub> som er en del av P700 bindende protein. FeS<sub>A</sub> og FeS<sub>B</sub> er en del av reaksjonssenteret.

For det meste skjer det en lineær **ikkesyklisk elektrontransport** i planter som fører til reduksjon av NADP<sup>+</sup> til NADPH. Elektronendonoren er vann, og fire elektroner og fire protoner frigis for hvert molekyl oksygen. Ved ikke-kjemisk kvensjing reguleres mengden eksitasjonsenergi til reaksjonssenteret, og beskytter mot overeksitasjon.

*P680 → P680\* → feofytin → Q<sub>A</sub> → Q<sub>B</sub> → cyt b<sub>6</sub>f → PC → P700 → P700\*  
→ ferredoksin → NADP<sup>+</sup>*

## Grunnstoffer deltar i fotosyntesen

Flere grunnstoffer deltar i fotosyntesen. Klorofyll har magnesium (Mg<sup>2+</sup>) i kjernen. Spaltingen av vann i fotosystem II utføres av et enzymkompleks som inneholder mangan (Mn<sup>2+</sup>). I det vannspaltende system virker en samling av mangan for å lagre energi før oksidasjonen av to molekyler vann. Mangan virker sannsynligvis som bindingssted for vannmolekylene før spalting. Cytokromer som inneholder jern, sammen med jern-svovelproteiner, deltar i elektrontransporten mellom fotosystem II og I. En av elektrontransportørene er **plastocyanin** som inneholder kobber.

**Ferredoksin** er et jern-svovelprotein som finnes løst i stroma i kloroplastene. Redusert ferredoksin i kloroplasten virker som elektrondonor for andre stoffer. I reduksjonen av  $\text{NADP}^+$  i fotosyntesen og til reduksjon av nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) og sulfitt ( $\text{SO}_3^{2-}$ ). Redusert ferredoksin kan også være med å regulere aktiviteten til enzymer i karbonassimilasjonen.

## Fotosystem II og I i thylakoidmembranene

Fotosystem I (plastocyanin-ferredoksin oksidoreduktase) og fotosystem II (vannplastokinon oksidoreduktase) har forskjellige absorpsjonsegenskaper og er plassert på forskjellige steder i thylakoidmembranene. Stromalameller (stromathylakoider) og ikke sammenpressete thylakoidmembraner er anrikt med fotosystem I i forhold til fotosystem II. Sammenpresset region i thylakoidmembranene (granastabler, granathylakoider) inneholder mer fotosystem II. Siden fotosystemene er fysisk atskilt fra hverandre må det finnes flyttbare elektronbærere i thylakoidmembranen. Plastokinon er fettløselige og kan diffundere i membranen. Plastocyanin, løselig membranprotein og cytokrom  $b_6f$  befinner seg i begge membrantyper, men ATP syntase befinner seg i den stromaeksponerte delen av thylakoidmembranene (stromalemellene).

Balansert fordeling av lysenergi mellom fotosystem II og I  
Fotosystem II er lysfølsomt og inaktiveres av for mye lys, spesielt ved mangel på elektronakseptorer f.eks. karbondioksid. Det kan være ubalanse mellom lysabsorpsjon i fotosystem II og I, elektrontransport, og elektronforbruk til  $\text{CO}_2$ -assimilasjon. Dette gjelder spesielt ved høy solinnstråling, tørke, lav temperatur og næringsmangel. Mangel på  $\text{CO}_2$  ved høy lysintensitet kan gi fotooksidasjon og bleking av klorofyll. Overskudd av eksitasjonsenergi inn i fotosystemene gir en reversibel reduksjon i fotosynteseaktivitet kalt **fotoinhibering**, hemming av fotosyntesen ved for mye lys. Ferredoksin kan redusere dioksygen til skadelige superoksidandionradikaler. For mye lysenergi kan også lede til irreversibele skader som nekrose og klorose som skyldes **fotooksidasjon**. Dette siste skjer når obligate skyggeplanter får for mye lys når f.eks. en beskyttende skog hogges ned. Eller hvis planter ned mot frysepunktet utsettes for mye lys. Fotosyntesen må ha evne til å kunne tilpasse seg forhold hvor fotonfluksen endrer seg 100-fold i løpet av sekunder. Mer langsiktige tilpasninger skjer ved endring i bladorientering, forflytning av kloroplaster i cellene og mengde klorofyll per arealenhet.

Balansert fordeling av eksitasjonsenergi mellom fotosystem II og fotosystem I gir mest effektiv fotosyntese. Antennepigmentene kan tilpasse fordelingen av absorbert eksitasjonsenergi mellom de to fotosystemene som gir maksimal elektronstrøm. Hvis det trengs mye ATP i forhold til NADPH vil det være fordel å ha mye syklisk fotofosforylering

Planter i undervegetasjon får lys som er anrikt med mørkerødt og hvor blått og rødt lys er fjernet av bladene over. Planter i vegetasjonsskygge og får lite lys har mer granastabler (anrikt med fotosystem II) enn solplanter. For skyggeplanter som får mest fotosystem I lys har et forhold mellom mengden fotosystem II/fotosystem I som

er større enn 2. Hos planter varierer forholdet mellom mengden fotosystem II/fotosystem I fra 0.4-2.3, hos grønnalger er det ca. 1.4 og for rødalger og blågrønnbakterier er det ca. 0.4.

Et klorofyll a/b antennekompleks (LHCII) inneholder et transmembranproteinkompleks med tre alfa-helikser, 14 molekyler klorofyll a/b og 4 karotenoider. Lyshøstende klorofyll-proteinkompleks i fotosystem II (LHCII, "light harvesting chlorophyll II") kan fosforyleres av en  $Mg^{2+}$  avhengig lysaktivert proteinkinase, danner LHCII-P, som påvirker energifordelingen mellom fotosystem II og I. Fosforylert lyshøstende klorofyllkompleks kan bevege seg i thylakoidmembranen og overføre lysenergi til fotosystem I. Derved kan koblingen mellom LHCII og fotosystem II justeres. LHCII kinase aktiveres når mengden plastokinon i redusert form ( $PQH_2$ ) hopper seg opp, og LHCII-P beveger seg vekk fra fotosystem II i granathylakoidene og over til stromathylakoidene som inneholder fotosystem I. Når plastokinon blir oksidert aktiveres en fosfatase som fjerner fosfat fra LHCII-P. Når LHCII ikke er fosforylert overføres mer energi til fotosystem II og når det er fosforylert leveres mest energi til fotosystem I. På denne måten kan lysenergien fordeles mellom de to fotosystemene.

Klorofyll a/b antenneproteinene LHCII og LHCI har sekvenslikhet noe som indikerer felles opphav.

## Emersons økningseffekt - indikasjon på to fotosystemer

Emerson og medarbeidere var de første som fant bevis for to forskjellige lysreaksjoner. De målte kvanteutbytte i fotosyntesen som funksjon av bølgelengden, og fant at belyste de en grønnalge med lys over 680 nm falt kvanteutbyttet i fotosyntesen, selv om det var lysabsorpsjon i klorofyll a. Kvanteutbyttet i mørkerødt lys, økte hvis man samtidig ga blått lys. Kvanteutbytte er forhold mellom antall produkter i forhold til antall absorberte kvanter. Imidlertid kunne kvanteutbyttet øke hvis man samtidig ga rødt og oransje lys eller rødt og blått lys. To bølgelengder ga mer oksygen, enn hver enkelt av dem alene. Fenomenet ble kalt **Emerson økningseffekt** og oppstår når en bølgelengde ikke eksiterer begge fotosystemene likt. Når bare fotosystem I tar opp mørkerødt lys med bølgelengde  $>680$  nm, minsker energiutbyttet. Bølgelengder  $<680$  nm kan drive begge fotoreaksjonene, men mest effektivt fotosystem II.

## Rødalger og blågrønnbakterier - fykobiliproteiner i fotosyntesen

Rødalger og blågrønnbakterier skiller seg fra plantene ved å inneholde fykobiliproteiner som virker som lyshøstende pigmenter som fanger opp lys i fotosyntesen. **Fykobiliner** er en vannløselig åpen tetrapyroll festet til proteiner med en thioeterbinding. Fykobiliproteiner er samlet i vifteformete **fykobilisomer** lokalisert på den ytre overflaten til thylakoidmembranene. Det er 5-6 staver i hver vifte. Lysenergien kan overføres fra fykoerythrin (450-570 nm) → fykocyanin (590-610 nm) → allofykocyanin (650-670 nm) → klorofyll. Fykoerythrin befinner seg ytterst i viften, deretter følger plasticyanin og allofykocyanin nærmest membranene.

Dinoflagellater har et **peridinin-klorofyll a kompleks**.

## Jern som elektrontransportør i cytokromer og svovelproteiner. Kobber i plastocyanin

Cytokrom  $b_6/f$ -komplekset som er likt fordelt mellom grana og stromalameller inneholder to b-hem, ett c-hem (tidligere kalt cytokrom f) og Rieske jern-svovelproteiner (navn etter Rieske som oppdaget dem). c-hem i cytokrom c er kovalent bundet til protein med en thioeterbinding til cystein, mens cytokrom b av protohemtypen er ikke kovalent bundet. Bakterier og mitokondrier inneholder et cytokrom  $bc_1$ -kompleks som ligner på cytokrom  $b_6/f$  kompleks. Cytokrom  $b_6/f$  komplekset er et hastighetsbegrensende ledd i fotosyntesen og er koblet sammen med fotosystem I via plastocyanin. Protoner fraktes over thylakoidmembranen inn i lumen via Q-syklus. Cytokrom f frakter elektroner til et blåfarget kopperprotein kalt plastocyanin som deretter reduserer reaksjonscenterklorofyll P700 i fotosystem I. Lysenergien gir her en svak oksidant  $P700^+$ . Noen alger og blågrønnbakterier inneholder et cytokrom c istedet for plastocyanin.

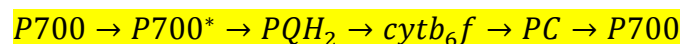
### Q-syklus

På cytokromkomplekset er det et bindingssete for kinon på lumensiden av membranen og for kinon på stromasiden. Kinol oksideres til semikinon av Rieske jern-svovelproteiner og elektroner går via cytokrom f til plastocyanin. Semikinon blir oksidert av et hem.



### Syklisk elektrontransport

I fotosyntetiske bakterier er elektrontransporten vanligvis en syklisk prosess som leder til reduksjon av  $NAD^+$  til NADH. Hos planter og alger skjer det også en **syklisk elektrontransport** som gir ATP, men ikke NADPH, og vann blir heller ikke oksidert. Den sykliske elektrontransporten blir følgende:



Elektronene går videre gjennom cytokrom  $b_6/f$ -komplekset og plastocyanin tilbake til P700. I dette tilfellet lages ikke oksygen og NADPH, men bare ATP. Betydningen av syklisk elektrontransport er omdiskutert.



## NADPH - reduksjonskraft fra ikke-syklisk elektrontransport

NADPH er bærer av reduksjonskraft i form av elektroner og protoner. Nikotinamidringen i pyridinnukleotidet kan motta to elektroner og ett proton. NADH brukes mest for å lage ATP i oksidativ fosforylering, mens NADPH overfører 2 elektroner og 2 protoner i reduksjonen av karbondioksid.

Elektrontransportørene er plassert assymetrisk i thylakoidmembranene. NADP-ferredoksin reduktase på utsiden av ikke-sammenpresset membran. Plastocyanin ligger inn mot lumen i thylakoiden og ferredoksin mot stromasiden. Redusert ferredoksin kan overføre elektroner til  $\text{NADP}^+$  slik at det dannes  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  katalysert av ferredoksin-NADP oksidoreduktase. Redusert ferredoksin kan også gi elektroner i en syklisk elektrontransport rundt fotosystem I katalysert av ferredoksin kinon reduktase.

## pH gradient og Q-syklus for å lage ATP

Syklisk og ikke-syklisk elektrontransport gir protoner og surgjøring av lumen og det blir en pH-gradient over thylakoidmembranen,  $\Delta\text{pH}$ . pH gradienten er imidlertid ikke så stor som man tidligere har trodd. Det lages en ladningsgradient som skyldes ladningsoverføring over membranen i en **Q-syklus**. Protoner blir også forbrukt ved reduksjonen av  $\text{NADP}^+$ , noe som hever pH i stroma. Den elektrokjemiske potensialgradienten over thylakoidmembranen brukes til protondrevet syntese av ATP, fotofosforylering, katalysert av ATP syntase.

## Pseudosyklisk elektrontransport

Mehler oppdaget i 1951 at thylakoider i lys kunne redusere oksygen. Det skjer på den reduserende siden av fotosystem I. Molekylært oksygen kan derved reduseres direkte av fotosystem I i en reaksjon kalt **pseudosyklisk elektrontransport** (Mehler-reaksjon). Dette gir superoksidanionradikalet som omsettes av enzymet superoksid dismutase. Superoksid dismutase (SOD) er metallproteiner som inneholder kobber, zink, mangan eller jern. Cu-Zn SOD finnes hos i alle eukaryote celler, inkludert kloroplastene.

## Kvanteutbytte og energieffektivitet

I fotosyntesereaksjonen:



lagres  $467 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Sammenlignet med rødt lys  $680 \text{ nm}$  som inneholder  $1760 \text{ kJ mol}^{-1}$  vil si at energioverføringseffektiviteten fra lysenergi til kjemisk energi i fotosyntesen er ca. 27%.

Fotosyntesen angis som en fluks eller som et kvanteutbytte.



Kvanteutbytte= antall fotokjemiske produkter dannet/totalt antall kvanter absorbert. Kvanteutbytte varierer fra 0 til 1, hvor 1 betyr at alle fotonene benyttes til å lage fotokjemiske produkter. Kvanteutbytte for fotokjemi er ca. 0.95.

Kvanteutbytte for oksygenutvikling i isolerte kloroplaster er ca. 0.1, det vil si 10 fotoner per molekyl O<sub>2</sub>. Det maksimale teoretiske kvanteutbytte i fotosyntesen hos C3-planter er 0.125 *i.e.* 1 CO<sub>2</sub> assimilert per 8 fotoner. Reduksjon i kvanteutbytte i forhold til det teoretiske hos C3-planter skyldes fotorespirasjonen. Reduksjonen i kvanteutbytte i forhold til det teoretiske hos C4-planter skyldes det ekstra energikravet til oppkonsentrering av CO<sub>2</sub> i C4-planter.

Kvanteutbytte for et intakt blad (C3 og C4 planter ved 380 ppm CO<sub>2</sub>) er ca. 0.04-0.06 mol CO<sub>2</sub> per mol fotoner. Kvanteutbytte varierer med temperatur og konsentrasjonen av oksygen og karbondioksid. Ved lavere temperatur enn 30°C er kvanteutbytte for C3-planter høyere enn for C4-planter. Over 40°C er det omvendt, noe som skyldes ratio karboksylase/oksygenase.

Oksygenutvikling kan brukes til å måle ikke-syklisk elektrontransport. Den initiale stigningen i lysmetningskurven for oksygenutvikling versus lysfluks gir et mål på kvanteutbytte. Det fotokjemiske kvanteutbytte er omtrent 100% (0.95).

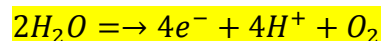
Kvanteeffektiviteten angir andelen absorberte fotoner som deltar i fotokjemi.

Energieffektiviteten sier noe om hvor mye av energien i absorberte fotoner som lagres i kjemiske produkter.

## Produksjon av dioksygen i fotosyntesen

Ved ladningsseparasjon lages P680<sup>+</sup> og feofytin<sup>-</sup>. P680<sup>-</sup> reduserer feofytin (-610 mV) og overfører elektronet fra en høy potensialdonor og skaper en sterk reduktant og oksidant. Elektronet overføres raskt fra feofytin til et semikinon.

P680<sup>+</sup> er en sterk oksidant og brukes til å oksidere vann (H<sub>2</sub>O), hvor det frigis oksygen (O<sub>2</sub>) og fire protoner (H<sup>+</sup>) i lumen i thylakoidmembranen. Fire elektroner (e<sup>-</sup>) fraktes i elektrontransportsystemet frem til fotosystem I for hvert molekyl oksygen som blir frigitt. Mn trengs i vannspaltingen.



Vannspaltingen, oksidasjon av vann, skjer mot lumensiden av thylakoidmembranen. Reaksjonen skjer i flere trinn. Fire positive ladninger skapt av P<sub>680</sub><sup>+</sup> må akkumuleres før et molekyl oksygen frigis, ifølge modellen til Kok og medarbeidere. Klorid (Cl<sup>-</sup>) og kalsium (Ca<sup>2+</sup>) virker som motion. Mangankomplekset bundet til et manganstabiliserende protein (33kDa) gjør at OH bindingen i vann blir svakere slik at to vannmolekyler kan kobles sammen og gi dioksygen.

Redoksaktivt tyrosin-160 på D1-proteinet, kalt tyr Z, er elektrondonor til fotooksidert klorofyll. Tyr Z reduseres med elektroner som kommer fra en samling av mangankomplekser og blir til tyr Z<sup>-</sup>. Tyr Z er en rask elektrondonor som dannes sammen med frigivelse av H<sup>+</sup>. P680<sup>+</sup> har meget sterkt oksidasjonskraft og må være fjernet ved ladningsseparasjon fra Q<sub>A</sub><sup>-</sup> for å hindre at elektronet flyter tilbake igjen.

Tyrosin Tyr Z blir reversibelt oksidert og redusert under utviklingen av dioksygen. Når

Tyr Z avgir et elektron til den sterke oksidanten  $P680^+$  avgir det samtidig et proton og blir derved et tyrosinradikal Tyr Z $\cdot$ . For å kunne gjendanne nøytralt Tyr Z trengs det både ett elektron og ett proton som kommer fra vann via det oksygenutviklende proteinkomplekst .

I vannspaltungsapparatet hos høyere planter inngår også proteinene PsbP (23 kDa), PSBO (33 kDa) og PsbQ (16 kDa).

I 1969 gjorde franskmannen Pierre Joliot eksperimenter med mørkeadapterte alger og kloroplaster hvor han studerte effekten på oksygenutviklingen ved å gi korte lysglimt. Joliot fant at oksygen ble utskilt i større mengder ved hvert 4. lysglimt. Nederlenderen Bessel Kok foreslo at fotosystem II lagret oksidasjonsekvivalenter ved hvert lysglimt til det ble samlet opp fire stykker som var nødvendig for å utvikle ett dioksygen fra to vannmolekyler. Dette ga opphav til en S-nivåsyklusteori med S nivåer (S0, S1, S2, S3, S4) i en 4 elektron oksidasjon av vann koblet til mangankomplekset.

## Ugrasdrepere (herbicider) som blokkerer fotosyntesens elektrontransport

Noen typer ugrasdrepere påvirker fotosyntesens elektrontransport. Dette gjelder triazin- og ureaherbicider f.eks. atrazin, simazin og diuron (DCMU-diklorfenyldimetylurea) som binder seg til det  $Q_B$ -bindende proteinet D1 i fotosyntesen.

Paraquat (metyl viologen) er et bipyridylherbicid som selges under handelsnavnet Gramoxon. Paraquat og diquat tar opp elektroner fra fotosystem I, virker som et kationradikal, hemmer reduksjonen av ferredoksin og gir opphav til superoksidanionradikaler som dreper plantene. Dibromothymokinon binder seg til kinolsete på cytokrom  $b_6f$ . Difenyleterherbicider f.eks. acifluorfen påvirker protoporfyrinogen IX oksidase og biosyntesen av tetrapyrroler som inngår i klorofyll.

## Elektrontransport hos kjemofotoautotrofe bakterier

Purpursvovelbakterier og purpurikkesvovelbakterier inneholder enten bakterieklorofyll a eller bakterieklorofyll b i membraner som kommer fra cytoplasmamembranen. Grønne svovelbakterier inneholder bakterieklorofyll a og enten bakterieklorofyll c, d eller e. Membranproteinkomplekset består av bakterieklorofyll, bakteriefeofytin, karotenoider, kinonmolekyler og jern. Reaksjonssenter  $P_{870}$ -komplekset er tilstede hos purpurbakteriene, mens  $P_{840}$  hos grønne svovelbakterier. Syklisk elektrontransport hos fotosyntetiske bakterier gir ikke oksygen, men ATP. Elektroner fra oksiderbare substrater trengs bare for produksjon av NADH. Elektroner fra bakteriefeofytin overføres til  $Q_A$  som er sterkt bundet til ubikinon som beveger seg over membranen og frakter protoner. Elektroner fra ubikinon kan brukes til å redusere NAD via ferredoksin katalysert av ferredoksin NAD reduktase eller går tilbake til reaksjonssenteret. Elektroner kommer fra hydrogensulfid eller thiosulfat.

Purpurbakteriene bruker en annen måte for å skaffe nok energi til å redusere  $\text{NAD}^+$ . Elektroner fra oksiderbare substrater overføres til ubikinon katalysert av dehydrogenaser. Elektroner fra ubikinonpoolen reduserer  $\text{NAD}^+$  gjennom energikoblet revers elektronstrøm.

## Fotofosforylering, ATP syntase og kjemiosmotisk teori

Plantenes evne til å utføre fotofosforylering ble oppdaget av Arnon og medarbeidere på 1950-tallet. Flyten av elektroner i elektrontransportkjeden i fotosyntesen er koblet til protontransport og syntese av ATP. Mitchells kjemiosmotiske teori for ATP syntese forutsetter membraner over hvilke det kan fraktes protoner. Membranvesikler har dinstinkt innside og utside som er forskjellige både funksjonelt og fysisk. Vannspaltingen skjer på den indre overflaten av thylakoidmembranen (mot lumen). I tillegg gir oksidasjon av plastokinon protoner i thylakoidlumen. pH gradienten er vanligvis 1-2 pH-enheter. Antall protoner som fraktes per elektron varierer mellom 2 og 3. Både protongradienten og ladningsforskjellen gir en **protondrivende kraft** (PMF):

$$PMF = \Delta E - \frac{2.303RT}{F} \Delta pH$$

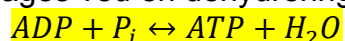
$$PMF = \Delta E - 59\Delta pH \quad (25^\circ C)$$

Det vil si 1 pH-enhet tilsvarer 59 mV.

Det er pH-gradienten som er viktig i kloroplastene. Den protondrivende kraft driver fotofosforyleringen. De første eksperimentene som antydte en slik mekanisme ble gjort av Jagendorf og medarbeidere. De hadde isolerte kloroplaster i en buffer pH 4 slik at det ble en likevekt på utsiden og innsiden med samme pH. Deretter ble kloroplastene overført til pH 8 sammen med ADP og  $P_i$  og de så at det ble dannet ATP uten at det var lys tilstede.

## ATP syntase - et roterende enzym

Enzymsystemet som lager ATP kalles **ATP syntase** og består av et hydrofilt proteinkompleks kalt  $\text{CF}_1$  som stikker ut i stroma, og en hydrofob del som ligger i membranen kalt  $\text{CF}_0$ .  $\text{CF}_1$  består av fem forskjellige proteiner ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ), 3  $\alpha$  og 3  $\beta$  subenheter.  $\alpha$  og  $\beta$  binder ADP og uorganisk fosfat ( $P_i$ ) og omdanner ADP til ATP.  $\delta$  kobler sammen  $\text{CF}_1$  og  $\text{CF}_0$ .  $\epsilon$  og  $\gamma$  virker som en protonport, og  $\epsilon$  lukker porten i mørke.  $\gamma$  kan aktivere ATP syntase via ferredoksin og thioeredoksin. Protoner slippes gjennom membranen og ATP lages ved en dehydreringsreaksjon:



ATP syntesen nøytraliserer protongradienten kontinuerlig. Etter en hypotese fremsatt av Paul Boyer roterer  $\gamma$  rundt en kamaksel bestående av protein. Ved de konformasjonsendringene i proteinene som transporten av  $\text{H}^+$  gjennom komplekset

forårsaker overføres energien til ATP. ATP syntase befinner seg i 3 konfigurasjoner: åpen (hvor ADP og  $P_i$  bindes), løs nukleotidbinding hvor ADP kobles sammen med  $P_i$ , og en hard nukleotidbinding med ATP.  $H^+$  brukes til å frigi ATP fra bindingssete.

Stoffer som utkobler ATP syntesen, men opprettholder elektrontransporten kalles **avkoblere**.

Boyer, P.D.: The ATP synthase - a splendid molecular machine. Ann. Rev. Biochem. 66 (1997) 717-749.

## Reparasjon av skadet fotosynteseapparat

Fotosynteseapparatet i kloroplastene kan skades på forskjellige måter:

- 1) For mye lysenergi inn i fotosystemene i forhold til behovet.
- 2) Fotodynamisk produksjon av singlett oksygen ( $^1O_2$ ) og oksygenradikaler.

Blad må kunne dissipere overskudd av lysenergi. Mye lys gir **fotoinhibering**.

Plantene har beskyttelsessystemer som har til oppgave å minske lysabsorpsjonen, fjerne overskuddsenergi og minske overeksitasjon av reaksjonssentere. Dissipering av eksitasjonsenergi eller fotokjemi kalles quenching. Ved ikke-fotokjemisk quenching sendes energien ut som varme.

Ved lave lysflukser er det stor sannsynlighet for at de fleste tilgjengelig lyskvantene kan brukes til å eksitere klorofyllmolekyler, men ved høy lysfluks kan ikke energien til alle tilgjengelige lyskvantene benyttes til å lagre kjemiske energi. Planter som blir utsatt for mye solenergi kan redusere energimottaket ved å endre bladvinkel i forhold til lyset. Det kan også ha lysreflekterende overflate. Overskuddsenergi kan fjernes som fluorescens eller varme. VAZ-syklus som består av en syklus av karotenoidene violaxanthin, antheraxanthin og zeaxanthin fjerner overskuddsenergi fra fotosyntesen og singlett oksygen som varme. Når det er overskudd av eksitasjonsenergi vil violaxanthin bli de-epoksidert til zeaxanthin via anteraxanthin. Når lys blir begrensende vil pH stige i lumen og zeaxanthin re-epoksideres til violaxanthin.

Det primære skadestedet ved **fotoinhibering** er reaksjonssenteret i fotosystem II og D1-proteinet. For å hindre skade blir D1- proteinet bygget raskt ned av protease og lages deretter på nytt slik at proteinet er i meget rask omsetning. . Fotoinhibering gir skade i fotosystem II ved å det kommer for mye eksitasjonsenergi inn i fotosystemet.

Fotodynamisk aktivering av oksygen til **singlett oksygen** kan skje ved at noen av klorofyllmolekylene omdannes til et **triplettstadium** som har lang nok levetid til å få overført energi til oksygen. Singlett oksygen har relativt lang levetid i den hydrofobe membranen. Singlett oksygen og produkter av denne gir fotoinhibering tillegg til at klorofyllmolekylet selv kan bli fotooksidert kan singlett oksygen oksidere umettede fettsyrer ved å danne peroksider. **Karotenoider** kan fjene overskuddsenergien fra singlett oksygen i form av varme. Blokkering av karotenoidbiosyntesen gir letale mengder singlett oksygen. Genene som koder for biosyntesen av karotenoider er klonet.

I tillegg beskytter fettløselig  **$\alpha$ -tokoferol** (vitamin E) og vannløselig **askorbinsyre** (vitamin C) mot potensielle skader fra singlett oksygen og reaktive oksygenradikaler. I

C3 planter kan fotorespirasjon være en viktig beskyttelsesmekanisme som fjerner oksygen ved å opprettholde elektrontransporten i karbonkjeden ved å slippe ut CO<sub>2</sub>. Katalase finnes ikke i kloroplasten. Superoksidanionradikaler (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) avgiftes med **superoksid dismutaser** som gir hydrogenperoksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Hydrogenperoksid reduseres til vann via askorbat peroksidase-glutathion reduktase syklus.

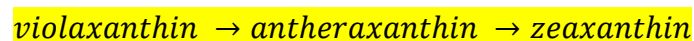
Det er to hovedtyper fotoinhibering. **Dynamisk fotoinhibering** ved moderat overskudd av lys. En beskyttelsesmekanisme er maksimal midt på dagen hvor kvanteutbyttet reduseres, men maksimal fotosynteserate kan være uforandret. Ved **kronisk fotoinhibering** er det akutt permanent skade av fotosynteseapparatet, med langtidsskade av D1. Fotoinhibering er mest utpreget ved lav temperatur kombinert med mye lys.

## Xanthofyllsyklus (VAZ-syklus) fjerner overskuddsenergi

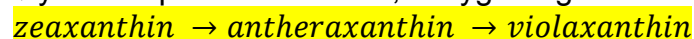
Karotenoider som ligger i thylakoidmembranene kan både virke som lyshøstende pigment (absorberer lysenergi fra 450-500 nm som overføres til klorofyll), men har også en funksjon i fotobeskyttelse av fotosynteseapparatet. Karotenoidene virker som en sikkerhetsventil som fjerner overskudd av eksitasjonsenergi som kommer inn i fotosyntesene ved høy lysfluks. Karotenoidene virker i denne fotobeskyttelsen ved å fjerne eksitasjonsenergi fra klorofyll som varme. Ved ikke-fotokjemisk quenching føres lysenergi vekk fra elektrontransport over til varmeproduksjon.

Xanthofyllsyklus er en syklus som gir en lysavhengig og reversibel minskning av violaxanthin i grønne blad. **Violaxanthin** omdannes til **zeaxanthin** via intermediet **antheraxanthin**. VAZ-syklus fjerner overskudd av eksitasjonsenergi som varme og beskytter planten mot fotooksidative skader under lysstress. Enzymet som katalyserer overføringen av violaxanthin til zeaxanthin er en del av thylakoidmembranen inn mot lumen og har et pH optimum ved pH 5.2. Under elektrontransporten i fotosyntesen pumpes H<sup>+</sup> inn i lumen. Hvis syntesen av ATP går saktere så øker konsentrasjonen av H<sup>+</sup> inne i lumen og mengden zeaxanthin øker. Enzymet de-epoksidase overfører violaxanthin til zeaxanthin med askorbat som kofaktor. Hvis derimot ATP syntesen er høy blir det mindre pH gradient og reaksjonen skjer fra zeaxanthin til violaxanthin katalysert av en epoksidase som bruker NADPH.

Mye lys, lav CO<sub>2</sub>, lav pH i lumen gir følgende reaksjon hvor H<sup>+</sup> og askorbat deltar:



Lie lys, høy CO<sub>2</sub>, høy lumen pH hvor NADPH, oksygen og H<sup>+</sup> deltar:



Det er indikasjoner på at det kan være en sammenheng mellom konsentrasjonen av zeaxanthin og åpning og lukkeing av spalteåpninger. Kloroplasten i mørkespirte koleoptiler inneholder violaxanthin og antheraxanthin, mens i lys dannes zeaxanthin. Dette kan muligens skyldes at kloroplastene i koleoptilen har en spesiell funksjon.

Blad i fullt sollys har høyere konsentrasjon av VAZ metabolitter enn i skyggeblad, og

i mye lys utgjør zeaxanthin og anteraxanthin 60% av poolen med VAZ. Det finnes imidlertid også VAZ i skyggeblad, og dette virker ved lysglimt som kommer ned til eller skyggefull skogbunn. VAZ-syklus er viktige i vintergrønne bartrær ved lav temperatur og mye sollys.

Utskillelsen av isopren er større i sol enn i skygge, men det skjer nysyntese av isopren ved høy temperatur.

## Syntese av klorofyll og hem

Mengden klorofyll i plantene er regulert. Klorofyll er et tetrapyrroll (porfyrin) og deler flere biosyntesetrinn med hem, som brukes til cytokromer. Det sendes et signal fra plastide til kjerne om start av klorofyllsyntese. Klorofyll lages fra aminosyren glutamat.  $\delta(5)$ -aminolevulinsyre (ALA) lages fra glutamat via 2-oksoglutarat og 2,5-dioksovalerat i en prosess koblet til tRNA<sup>glu</sup> katalysert av glutamyl-tRNA reduktase. Porfobilinogen som gir utgangspunkt for pyrrolringene i klorofyll lages fra to molekyler ALA katalysert av **ALA dehydratase**. Fire pyrrolringer gir **protoporfyrin IX** og til hit danner felles biosyntesevei for hem og klorofyll. Deretter settes Mg<sup>2+</sup> inn i kjernen av molekylet katalysert av en **Mg-chelatase** på biosynteseveien til klorofyll. Fe<sup>2+</sup> settes inn hvis det skal lages hem katalysert av **ferrochelata**. De videre trinnene i klorofyllsyntesen er at Magnesium protoporfyrin IX metyleres og blir deretter omdannet til protoklorofyllid ved at det dannes en 5. ring av en propionsyresidekjede. Protoklorofyllid fotoredueres til klorofyllid katalysert av det lysavhengige enzymet **protoklorofyllid oksidoreduktase**, og finnes hos blågrønnbakterier, grønnalger, moser, gymnospermer og angiospermer. Det finnes også en lysuavhengig reduksjon av protoklorofyllid, som anses for å være en mer primitiv, og finnes hos purpurbakterier, grønnalger, moser og gymnospermer. Siste trinn i klorofyllsyntesen er påheking av en hydrofob C<sub>20</sub> fytolhale, katalysert av enzymet **klorofyll syntetase**. Fytolhalen lages via geranylgeranyl reduktase som katalyserer reduksjonen (hydrogenering) av geranylgeranyldifosfat til ftyldifosfat. Ftyldifosfat kan brukes både til å lage fytolhalen på klorofyll og til syntese av  $\alpha$ -tokoferol. Klorofyll a kan omdannes til klorofyll b katalysert av en klorofyll oksygenase som omdanner en metylgruppe til en formylgruppe. Denne endringen gir relativt store forandringer i absorpsjonsegenskapene. Klorofyll er grønnfarget fordi blått og lys absorberes mer effektivt enn grønt.

Chelatering med jern i protoporfyrin IX ga som tidligere nevnt hem. Hem oksygenase omdanner hem til biliverdin IX $\alpha$  katalysert av **hem oksidase**. Biliverdin IX $\alpha$  omdannes til 3Z-fytokromobilin katalysert av **fytokromobilin syntase**. En isomerisering gir deretter 3E-fytokromobilin

## Klorofyllnedbrytning

Klorofyll absorberer lys og kan gi skadelig singlett oksygen. Nedbrytningen av klorofyll i aldrende blad skjer først ved at fytol fjernes katalysert av en klorofyllase. Deretter fjernes Mg<sup>2+</sup> katalysert av magnesium dechelata



tetrapyrroler av en oksygenavhengig oksygenase. Det dannes vannløselige og fargeløse produkter som fraktes til vakuolen for lagring, mens klorofyllbindende protein nedbrytes, resirkuleres og lagres

## Biosyntese av karotenoider

Det er kjent 150 forskjellige karotenoider hos fotosyntetiserende organismer. Karotenoider finnes også i dyr, fugler (gule/røde fjær, eggeplomme), laksefisk (rødfarget astaxanthin) og invertebrater og tas opp via mat som opprinnelig kommer fra planteriket. Klorofyllene forekommer i større mengder og den grønne fargen dekker over og maskerer nærværet av karotener og xanthofyller. Botanikeren Mikhail Semenovitch Tswett var den første som i 1903 observerte at et grønnfarget ekstrakt fra blader kunne atskilles i gule og grønne fargestoffer ved kromatografering. Men den viktigste oppgaven er å beskytte fotosystemene mot av skadelige former av oksygen. Karotenoidene er en kjemisk slektning til vitamin A.  $\beta$ -karoten og andre karotenoider med usubstituerte  $\beta$ -ringer har stor betydning for menneskets ernæring og syn idet  $\beta$ -karoten bl.a. omdannes via retinal til vitamin A (retinol). En av funksjonene til karotenoidene i plantene er å beskytte mot skadelige effekter av oksygen (singlett oksygen) og fotooksidasjoner ved høy lysinnstråling, men karotenoidene deltar også i oppsamling av lys i fotosyntesen. Eksempler på karotener i planten er  $\beta$ -karoten (gul) med karakteristisk "trefingret" absorpsjonstopp og lycopen som gir rød farge på tomat. Karotenoider er tetraterpener. Fytoen lages fra to molekyler geranylgeranyldifosfat. Fytoen omdannes til lykopen katalysert av desaturaser og ringdannelse i begge ender.  $\beta$ -karoten inneholder to  $\beta$ -iononringer.  $\alpha$ -karoten inneholder en  $\beta$ -iononring og en  $\epsilon$ -iononring. Hydroksylering av  $\alpha$ -karoten gir lutein som er et xanthofyll. Hydroksylering av  $\beta$ -karoten gir zeaxanthin. Zeaxanthin kan ved epoksidering omdannes til violaxanthin og videre til neoxanthin. VAZ-syklus (xanthofyllsyklus) beskytter fotosystemene mot for mye lysenergi.

## Thylakoidmembraner i kloroplasten

Thylakoidmembranene (thylakoidlamellene) lager sammenpressede stabler kalt **grana** (granalameller), heftet sammen med enkle ustablede **intergranalameller**, også kalt **stromalameller**. Det indre rommet danner et intrathylakoidrom kalt **lumen**. Kloroplastmembranene inneholder mye av galaktolipidene monogalaktosyldiacylglycerol (MGDG) og digalaktosyldiacylglycerol (DGDG), litt svovellipid sulfoquinovosyldiacylglycerol (SQDG) og fosfolipid fosfatidylglycerol. Thylakoidmembraner fra eukaryote alger og lavere planter inneholder i tillegg betainlipidene diacylglyceryltrimetylhomoserin og diacylglyceryltrimetyl- $\beta$ -alanin. Glycerol er forestret med fettsyrer i *sn-1* og *sn-2* posisjon og det vanligste fettsyrene i kloroplasten er  $\alpha$ -linolensyre i MGDG og palmitinsyre i DGDG. Fosfatidylglycerol inneholder i tillegg fettsyren  $\Delta$ -*trans*-hexadecanoic syre bestående av 16 karbonatomer og 3 dobbeltbindinger ved karbonatom 7, 10 og 13. I blågrønnbakterier finnes og tetraumettede fettsyrer.

Thylakoidmembranene kan deles i sammenpresset, ikke-sammenpresset og kantområder. De sammenpressete områdene inneholder mest av fotosystem II med lyshøstende klorofyllkompleks II (LHCII), mens de ikke-sammenpressete områdene er anriket med fotosystem I og CF<sub>0</sub>-CF<sub>1</sub> komplekset i ATP syntase. Cytokrom *b<sub>6</sub>f*-komplekset er likt fordelt mellom sammenpresset og ikke sammenpresset region. I tillegg finnes det en flyttbar form av LHCII som i fosforylert form fjernes fra fotosystem II og diffunderer til ikke-sammenpresset region for å lette energioverføringen til fotosystem I. Kantområdene har lite protein siden membranen her blir sterkt bøyd.

## Import av protein i kloroplasten

Genene som koder for fotosynteseproteiner befinner selv delvis i plastigenomet (plastomet) og delvis i cellekjernen. Det er ialt 24 forskjellige proteiner kjent fra fotosystem II. Plastocyanin lages fra kjernegenomet og blir fraktet inn kloroplasten merket med et transitpeptid.

Fotosynteseproteiner som lages i cytoplasma må fraktes inn i kloroplasten gjennom membranene. Protein som skal importeres inneholder en N-terminal transittsekvens. Når proteinet er kommet inn fjernes signalsekvensen av en spesiell protease. Proteindelen av ferredoksin er et eksempel på protein som blir importert.

## Temperatur og fotosyntese

Når vi ser, huden vår blir solbrent eller når plantene utfører fotosyntese er dette alle deler av lysets kjemi. Når vi tar bilde med et gammeldags fotografiapparat med film bruker vi lysmåleren på kamera. Vi bryr oss ikke om temperaturen i lufta når vi tar bildet. Dette er den rene fotoreaksjonen av fotograferingen. Denne kan sammenlignes med fotosyntesens lysreaksjoner som også går for seg uavhengig av temperaturen. Når vi skal fremkalle filmen fra fotoapparatet blir temperaturen svært viktig. På samme vis er enzymene i fotosyntesen som skal binde og redusere luftens karbondioksid svært følsomme for endringer i temperaturen. Opp til et visst nivå jobber enzymene mer aktivt jo høyere temperatur det er, opptil temperaturen hvor proteiner kan denatureres og skades. Planter som er tilpasset å vokse i kalde strøk har maksimal fotosyntese ved en lavere temperatur enn en plante som er vant til å vokse varmt.



# Fotosyntesens karbonreaksjon: CO<sub>2</sub> assimilasjon i planter

## Produsentene på jorda - plantene bygger seg selv

Fotosyntesen er en omvandlingsprosess som ville ha gjort alkymistene misunnelige. Ved hjelp av sollys, karbondioksid, vann og uorganiske mineraler fra jorda kan plantene lage komplekse organiske forbindelser. Navnet klorofyll på pigmentet som fanger opp sollys kommer fra det greske *chloron* som betyr grønn og *phyllos* som betyr blad. Fotosyntesen foregår i blad og alle grønne plantedeler i nærvær av sollys. Plantene lager fire hovedtyper organiske stoffer, karbohydrater, fett, protein og nukleinsyrer. Organiske stoffer inneholder karbon, hydrogen og som regel oksygen. Noen stoffer inneholder i tillegg nitrogen og svovel. For å omdanne karbondioksid, vann, nitrat og sulfat til protein, sukker og fett trengs elektroner og protoner. Elektroner og protoner får planten ved å spalte vann. Samtidig lages det oksygen fra vannet som et biprodukt. Fotosyntesen skaffer oss oksygen og energi. I fotosyntesen omdannes 200 milliarder tonn CO<sub>2</sub> til biomasse per år, ca. 40% marint og 60% terrestrisk.

Olje og kull som utgjør en vesentlig energikilde i verden stammer fra plantenes fotosyntese. Energien i oljen og kullet kommer fra sollys som ble oppfanget og samlet av planter som levde for flere millioner år siden. Via geologiske krefter og prosesser ble organisk materiale omdannet til olje og kull. Plantene har laget enorme mengder organisk stoff gjennom tidene. På jorda går det med 10.000 tonn oksygen per sekund for å holde respirasjon og forbrenning ved like. Alt oksygen på jorda ville ha blitt brukt opp i løpet av 3000 år hvis fotosyntesen ikke sørget for det laget på nytt. Konsentrasjonen av oksygen i atmosfæren holder seg nå stabil. Det betyr at plantene på jorda og algene i havet lager like mye oksygen som forbrukes ved ånding og forbrenning.

Syklusen hvor stoffet som binder luftens karbondioksid gjendannes i flere trinn har fått navnet Calvin-syklus, eller mer riktig Calvin-Bassham-Benson-syklus etter de tre oppdagerne Melvin Calvin, James Bassham og Andrew Benson, alle ved universitet i California. Ved hjelp av radioaktivt merket karbondioksid kunne de følge omsetningen av assimilert karbon i planten. På 1950-tallet klarte de hvordan CO<sub>2</sub> ble assimilert i grønnalgen *Chlorella*. Ved hjelp av den radioaktive karbonisotopen <sup>14</sup>C, todimensjonal kromatografering og autoradiografi utledet de sekvensen av reaksjoner. Calvin fikk nobelprisen i kjemi i 1961 for dette arbeidet. De forbindelsene som ble radioaktivt merket kunne atskilles ved papirkromatografering. En teknikk utarbeidet av engelskmannen J. P. A. Martin som fikk nobelprisen i fysikk i 1952 for dette arbeidet.

Det har de seinere årene vært mulig å dele plantene inn i tre hovedgrupper etter hvilken måte de binder luftens karbondioksid: C<sub>3</sub>- , C<sub>4</sub>- og CAM-fotosyntese. Det

mest vanlige er C3-fotosyntese som finnes i C3-plantene. Omtrent alle plantene i våre strøk er C3-planter. I kloroplasten bindes karbondioksid med ett karbonatom til en kjemisk forbindelse i planten bestående av fem karbonatomer, ribulose-1,5-bisfosfat. I denne reaksjonen dannes to molekyler bestående av tre karbonatomer, 3-fosfoglycersyre. Regnestykket med karbonatomer er  $5 + 1 = 3 + 3$ . Enzymet som øker hastigheten på denne reaksjonen, ribulose bisfosfat karboksylaseoksygenase, populært kalt rubisko, forekommer i store mengder i plantene. Omtrent 40 % av alt løselig bladprotein i plantene er dette enzymet som derved er proteinet det forekommer mest av på jorda. Imidlertid er enzymet lite effektivt, derfor må det være store mengder av det. Økes karbondioksidkonsentrasjonen rundt plantene kunstig arbeider rubisko mer effektivt. Dette kalles karbondioksidgjødsling og kan brukes i veksthus i enkelte deler av gartner næringen for å få økt vekst og avling.

Kortbølget elektromagnetisk stråling fra sola blir absorbert av objekter på jorda, og blir sendt ut igjen til atmosfæren som langbølget varmestråling. Varmestrålingen blir delvis absorbert av vanddamp, metan, troposfæreozon, karbondioksid og andre såkalte drivhusgasser. Det har igjennom millioner av år vært store endringer av konsentrasjoner av vanddamp, CO<sub>2</sub> og metan i atmosfæren, og det har vært mange istider etterfulgt av isavsmelting og varmeperioder. Iskjerneprovver fra Antarktis har vist at det har skjedd en dobling i CO<sub>2</sub> konsentrasjon på 420.000 år. I Kritt var sannsynligvis CO<sub>2</sub> konsentrasjonen 1000 ppm. Keeling har siden 1958 foretatt systematiske målinger av konsentrasjonen av CO<sub>2</sub> på Hawaii. CO<sub>2</sub> konsentrasjonen har årstidssvingninger avhengig av vekstsesongen, er høyest i mai like før vekstsesongen på den nordlige halvkule og lavest ved slutten av vekstsesongen. Konsentrasjonen av karbondioksid i atmosfæren har i gjennomsnitt økt fra ca. 270 ppm CO<sub>2</sub> i 1870 til ca. 380 ppm (0.038%) i dag. Det skjer nå en økning med 1-3 ppm per år og et fremtidsbeskrivende scenario tilsier ca. 600-700 ppm CO<sub>2</sub> i år 2100. Økningen skyldes CO<sub>2</sub> fra fossilt brensel (olje, gass, kull) og nedhogging av store skogsområder. Det foregår nå en intens debatt om i hvilken grad menneskeskapt økning av konsentrasjonen av drivhusgasser i atmosfæren, en **antropogen forsterket drivhuseffekt**, påvirker klima på jorda. En økning i konsentrasjonen av CO<sub>2</sub> tilsier at plantene vil kunne vokse noe raskere, men dette er en sannhet med modifikasjoner, og avhenger bl.a. av andre begrensende faktorer for vekst. Ikke alle planter reagerer likt på høyere konsentrasjon av CO<sub>2</sub>, jfr. C3- og C4-planter. Høyere konsentrasjon av CO<sub>2</sub> vil kunne gi lavere vannforbruk hos noen arter. Når CO<sub>2</sub> konsentrasjonen øker reduseres antall spalteåpninger per arealenheter på bladet.

Etter Calvin, Bassham og Bensons oppdagelser trodde man at vi kjente til hvordan luftens karbondioksid ble bundet i plantene. Men på Hawaii i 1965 fant derimot Kortschak, Harrt og Burr at den første stabile forbindelsen i sukkerrør som ble laget etter binding av karbondioksid var en C4-forbindelse, malat eller aspartat. Regnestykket var nå  $3 + 1 = 4$ . Hos sukkerrør binder karbondioksid seg til et stoff med 3 karbonatomer, fosfoenylpyruvat. Forskerne Hatch og Slack fra Australia bekreftet disse resultatene i 1966, og flere planter med tropisk utbredelse som gressarter på savanner, mais, hirse, og dhurra assimilerte karbondioksid på samme måten. Disse plantene kalles derfor C4-planter i motsetning til C3-planter. C4-

plantene har en slire eller krans med celler rundt ledningsstrengene, plantens nærings- og vanntransportsystem. C4-syrene fraktes inn til disse cellene fra de vanlige bladcellene. Her blir C4-syrene brutt ned til karbondioksid og en forbindelse med tre karbonatomer. Karbonregnestykket viser 4 gir 3 + 1. Dette fungerer som en transportmekanisme for karbondioksid inn til indre delene av planten. En høy konsentrasjon inne i bladet gjør at planten ikke trenger så mye karbondioksid utenfra og kan derved holde spalteåpningene mer lukket og redusere vanntap. Karbondioksid kan nå bindes i den velkjente Calvin-syklus som finnes i kloroplastene i kranscellene rundt ledningsstrengene. C4 plantene er tilpasset voksesteder med høye lysintensiteter, høy temperatur og de klarer seg med mindre vann enn C3-plantene. Sukkerrør, mais, *Sorghum*, *Amaranthus* og tropiske gras er eksempler på C4-planter. Den eneste C4-planten som finnes i våre strøk er sodaurt. C4-fotosyntese kan også finnes i helt neddykkede vannplanter som brasmegras.

C4 plantene er mer effektive til å samle opp karbondioksid fra luften enn C3-plantene. Plasseres en C3-plante i et lukket kammer med luft og belyses, vil konsentrasjonen av karbondioksid i kammeret stabilisere seg på 0.005 % . Vanlig luft inneholder ca. 0.03 % . En C4-plante vil under de samme betingelsene omtrent tømme karet for karbondioksid. En erteplante (C3-plante) sammen med mais (C4-plante) i lys under en tett glassbeholder vil av denne grunn etterhvert dø. Maisplanten vil overleve. Dette skyldes at C3-plantene ikke er så effektive til å binde karbondioksid som C4-plantene. Det har knyttet seg stor interesse til fenomenet at C4-plantene har større fotosyntese enn C3-plantene. I omgivelser med høy solinnstråling og høy dagtemperaturer karbontapet ved fotoåndingen betydelig hos C3-planter. C4-plantene og saftplantene har derfor mange fordeler i slike varme strøk. Selv om C4-plantene utgjør bare 0.4 % av alle artene blomsterplanter har de inntatt en viktig økologisk nisje på jorda.

Kaktus og andre vannfylte sukkulenter som lever i tørre strøk med intenst sollys bruker en tredje mekanisme til å binde karbondioksid. Plantene kalles sukkulenter eller saftplanter, og den spesielle fotosyntesen kalles CAM-fotosyntese etter navnet på plantefamilien Crassulaceae - bergknappfamilien som inneholder mange sukkulenter eller saftplanter. Saftplantene er som navnet tilsier fylt med ekstra vannreservoir til bruk i tørketider. Disse plantene har spalteåpningene åpne om natten og lagrer C4-syrer i vakuolen om natten. Karbondioksid bindes som i C4-plantene. Hadde vi smakt på en slik ugiftig plante tidlig om morgenen ville det smakt surt av epletsyre. Utover dagen forsvinner surheten. Når dagen kommer og solvarmen blir intens kan spalteåpningene lukkes for å redusere vann tapet. Plantene bruker nå C4-syrene som karbondioksidkilde mens det er som varmest. Bindingen og bruk av karbondioksid er atskilt i tid hos saft-plantene.

CAM-fotosyntese er ikke bare genetisk, men også miljømessig betinget, og er best utviklet hvis plantene har varme dager, kalde netter, mye lys og lite vann. Er det god vanntilgang, og ikke for høy temperatur har CAM-plantene istedet vanlig C3-fotosyntese.

Luften vi og plantene omgir oss med består av 78 % nitrogen, 21 % oksygen. Den siste 1 % består av flere gasser inkludert karbondioksid. Karbondioksid i luften

omkring plantene beveger seg inn i bladene via spalteåpningene i epidermis. Transporten av oksygen og karbondioksid går mye raskere i luft enn i vann. Derfor er det hulrom mellom alle cellene i bladet slik at gasstransporten går raskest mulig. Plantene har ikke et blodløp som sørger for transport og utveksling av gassene oksygen og karbondioksid. Karbondioksid løses i væskefilmen i celleveggene inne i bladet, og beveger seg inn til kloroplastene hvor fotosyntesen foregår.

ATP og NADPH brukes til å redusere karbondioksid. CO<sub>2</sub> har oksidasjonstrinn +4. For å kunne utnytte energien som er lagret i lysreaksjonen i form av ATP og NADPH, trengs en CO<sub>2</sub>-akseptor før CO<sub>2</sub> kan bli redusert: ribulosebisfosfat - en 5-karbonforbindelse. I to trinn blir 3-fosfoglycерыsyre redusert ved hjelp av ATP og NADPH til glyceraldehyd-3-fosfat (triosefosfat). CO<sub>2</sub>-akseptoren ribulosebisfosfat regenereres via Calvin-syklus. Resten av triosefosfatene brukes til lage stivelse i kloroplasten eller blir transportert som C3-forbindelser ut av kloroplasten. Mengden av C3 som fraktes ut av kloroplasten kontrolleres av tilgangen på uorganisk fosfat (P<sub>i</sub>).

## Reduktiv pentosefosfatvei (Calvin syklus)

Alle planter og alger kan redusere CO<sub>2</sub> til karbohydrater ved samme mekanisme kalt reduktiv pentosefosfatvei eller Calvinsyklus. Denne består av 13 enzymkatalysert reaksjoner i stroma i kloroplastene.

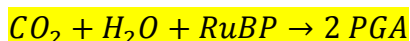
Syklusen består av tre hovedtrinn

- 1) Karboksylering
- 2) Reduksjon
- 3) Regenerering

Karboksyleringen skjer ved at fem-karbon akseptoren **ribulose 1,5-bisfosfat** (RuBP) bindes til CO<sub>2</sub> og vann katalysert av enzymet **ribulose 1,5-bisfosfatkarboksylase/oksygenase** med akronymet **rubisko**.

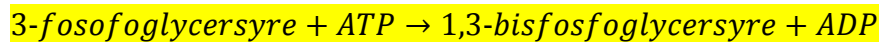
Oksygenaseaktiviteten til rubisko gir opphav til **fotorespirasjon**.

Opptil 40% av det løselige proteinet i blader består av rubisko. Rubisko er satt sammen av 8 store subenheter (LSU) kodet av kloroplastgenomet og 8 små subenheter (SSU) kodet fra cellekjernen (L<sub>8</sub>S<sub>8</sub>). De små subenhetene starter translasjon av LSU mRNA. Total molekylvekt for rubisko er ca. 560 kDa i en konsentrasjon tilsvarende ca. 4 mM. Den lille subenheten er merket med en transit peptid i N-enden som anviser at den skal til gjennom kloroplastmembranen. Sammenkoblingen av subenhetene i rubisko til riktig konformasjon er katalysert av **chaperoner**.

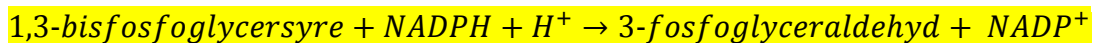


Det dannes et ustabil intermediat, 2-karboksy-3-ketoarabinitol-1,5-bisfosfat og ved hydrolyse av intermediet dannes det to molekyler **3-fosfoglycерыsyre** (PGA) som er de første stabile kjemiske forbindelsen i syklusen. Reduksjonen skjer ved at 3-fosfoglycерыrat fosforyleres til 1,3-bisfosfatglycерыrat ved hjelp av ATP fra lysreaksjonen

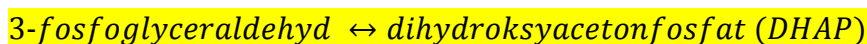
katalysert av enzymet **3-fosfoglycerat kinase**. Vi bruker endelsen *-at* når det er snakk om den ioniserte syren og *-syre* når den er protonisert.



NADPH brukes deretter til å lage 3-fosfoglyceraldehyd katalysert av **NADP-glyceraldehyd-3-fosfat dehydrogenase**:



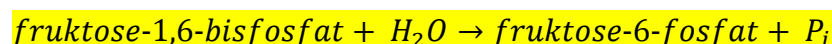
Nå har reduksjonen av CO<sub>2</sub> skjedd, fra syre til aldehyd. Det samme enzymet i glykolysen bruker NAD som koenzym. 3-fosfoglyceraldehyd kan omdannes til dihydroksyacetofosfat i en isomeringsreaksjon katalysert av **triosefosfat isomerase**.



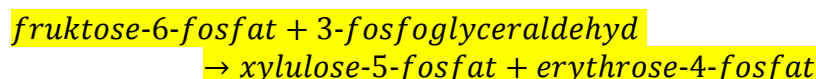
Glyceraldehyd-3-fosfat og dihydroksyacetofosfat kalles **triosefosfater**. Triosefosfater eksporteres ut av kloroplasten i bytte med ortofosfat via en **triosefosfat translokator**. 5 molekyler triosefosfat ut av 6 nylagete trengs for å regenerere RuBP. For hver av de 6 molekyler triosefosfat trengs 5 for å regenerere tre molekyler ribulose 1,5-bisfosfat. Dihydroksyacetofosfat og glyceraldehyd-3-fosfat gjennomgår en aldolkondensasjon katalysert av en **aldolase** og produktet er fruktose-1,6-bisfosfat:



Fruktose-1,6-bisfosfat hydrolyseres til fruktose-6-fosfat katalysert av **fruktosebisfosfat fosfatase**:



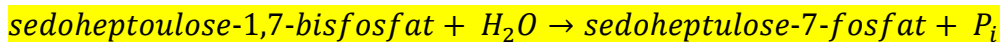
En enhet på to karbonatomer overføres fra fruktose-6-fosfat til et tredje molekyl 3-fosfoglyceraldehyd og gir erythrose-4-fosfat og xylulose-5-fosfat katalysert av en **transketolase**:



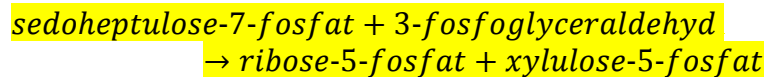
Erythrose-4-fosfat kombineres med et fjerde molekyl 3-fosfoglyceraldehyd og gir sjukarbonsukkeret sedoheptulose-7-fosfat katalysert av en **aldolase**:



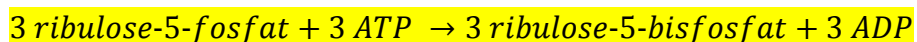
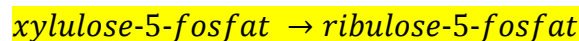
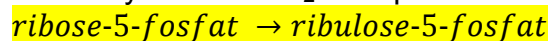
Sedoheptulose-1,7-bisfosfat hydrolyseres til sedoheptulose-7-fosfat katalysert av sedoheptulose-1,7-bisfosfat fosfatase:



Sedoheptulose avgir to karbonatomer til et femte og siste molekyl 3-fosfoglyceraldehyd, katalysert av en **transketolase** og produktene er xylulose-5-fosfat og ribose-5-fosfat:



De to molekylene med xylulose-5-fosfat omdannes til to molekyler ribulose-5-fosfat katalysert av en **epimerase** og ribose-5-fosfat omdannes til ribulose-5-fosfat katalysert av en **isomerase**. **Ribulose-5-fosfat kinase** fosforilerer de 3 molekylene med ribulose-5-fosfat til 3 molekyler med CO<sub>2</sub>-akseptoren ribulose-1,5-bisfosfat:



I sammendrag deltar de følgende enzymer i de 13 reaksjonene:

1. Ribulose-bisfosfat karboksylase-oksigenase
2. Fosfoglycerat kinase
3. NADP-glyceraldehydfosfat dehydrogenase
4. Triosefosfat isomerase
5. Aldolase
6. Fruktose bisfosfatase
7. Transketolase
8. Aldolase
9. Sedoheptulose-1,7-bisfosfatase
10. Transketolase
11. Ribose-5-fosfat isomerase
12. Ribulose-5-fosfat epimerase
13. Fosforibulokinase.

Reduktiv pentosefosfatvei lager sine egne substrater. Hastigheten på syklusen øker til en maksimal fluks. 1/6 av karbonet er tilgjengelig for eksport til sukrose eller stivelse. 5/6 for regenerering av RuBP.

For å lage en heksose fra 6 molekyler med CO<sub>2</sub> trengs 18 ATP og 12 NADPH, dvs. det forbrukes 3 molekyler ATP og 2 molekyler NADPH for hvert CO<sub>2</sub> molekyl som blir fiksert.

Vann inngår i reaksjonene katalysert av rubisko og fosfataser (sedoheptulosebisfosfat fosfatase og fruktose bisfosfat fosfatase. Når ATP hydrolyseres til ADP og uorganisk

fosfat forbrukes det vann.

Calvinsyklus er en energieffektiv prosess. Heksose som blir fullstendig oksidert ved respirasjon frigir  $2804 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Hydrolyse av ATP frigir  $29 \text{ kJ mol}^{-1}$  og NADPH som blir oksidert frigir  $217 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Totalt gir dette en effektivitet på ca. 90% ( $12 \cdot 217 + 18 \cdot 29 = 3126 \text{ kJ mol}^{-1}$ ).

I fullt sollys kan reduktiv pentosefosfatvei begrense fotosyntesen. Feedbackregulering av stroma og thylakoidreaksjoner via tilgjengeligheten av NADPH. Mengden NADP/NADPH i kloroplasten er ca.  $20 \text{ nmol mg klorofyll}^{-1}$ , hvorav ca. 50 % er i redusert form i lys.  $\text{NADP}^+$  kan lages fra  $\text{NAD}^+$  i stroma. Mengden adenylater (ATP, ADP, AMP) er ca.  $60 \text{ nmol per mg klorofyll}$

Proteinkonsentrasjonen av rubisko  $300 \text{ mg ml}^{-1}$   $\text{CO}_2$  konsentrasjonen i kloroplasten ved  $25^\circ\text{C}$  er ca.  $10 \text{ }\mu\text{M}$  ved steady state fotosyntese mens  $K_m$  for  $\text{CO}_2$  i luft er ca.  $20 \text{ }\mu\text{M}$ . Maksimal karboksylering blir da  $1 \text{ mg CO}_2 / \text{h mg karboksylase}$ . Netto fotosyntese for C3 plante er ca.  $25 \text{ mg CO}_2 \text{ dm}^{-2} \text{ h}$ , dvs. det trengs  $25 \text{ mg RuBP}$  på dette arealet. Den høye  $K_m$ -verdien for rubisko vil si at med dagens  $\text{CO}_2$ -konsentrasjon går rubisko med halv hastighet. Tilførsel av karbondioksid til C3-planter vil derved gi midlertidig økt vekst hvis næringstilgangen er god. Dette er et fenomen som kalles  **$\text{CO}_2$ -gjødsling** og er benyttet i veksthusnæringen. Den spesifikke aktiviteten er også lav  $1\text{-}4 \text{ }\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ . Opptil 50 % av bladproteinet kan være rubisko.

Skyggeblad har lavere lysmettet fotosyntese og mindre mengde rubisko enn solblad. Rubisko er fritt løselig i stroma men er bundet med elektrostatiske krefter til thylakoid og kloroplastmembranen. I blågrønnbakterier mangler rubisko i de nitrogenfikserende heterocystene. Dette fordi nitrogenase ikke tåler oksygen. I fotosyntetiserende vegetative celler er rubisko fordelt mellom løselig i cytoplasma og partikulært i karboksosomer.

$\text{CO}_2$  (+4) er en av de mest oksiderte formene av karbon. I 3-fosfoglycerat har karbon oksidasjonsstrinn (+3) og i glyceraldehyd-3-fosfat (+1).

## $\text{CO}_2$ assimilasjon i anaerobe fotosyntetiske bakterier

Anaerobe fotosyntetiske bakterier bruker ikke Calvin-syklus. **Grønne svovelbakterier** bruker **reduktiv sitronsyresyklus** (reduktiv Krebsyklus eller reversering av trikarboksylsyresyklus) til å lage organiske syrer som oksalacetat, hvor acetyl-CoA brukes som  $\text{CO}_2$  akseptor. Redusert ferredoksin brukes som elektronkilde og produktet er pyruvat.  $\text{CO}_2$  kan deretter bindes i overgangen fosfoenolpyruvat til oksalacetat, mellom succinyl-CoA og 2-oksoglutarat og mellom 2-oksoglutarat og oksalosuccinat. **Metanogene og acetogene bakterier** bruker **acetyl-CoA biosynteseveien**. **Grønne ikke-svovelbakterier** kan bruke en glyoksylatproduserende syklus ( **hydroksypropionsyre biosynteseveien**) til fiksering av karbondioksid.

## Regulering av Calvin-syklus

Enzymkonsentrasjon er regulert via genekspressjon og proteinsyntese. Calvin-syklus (reduktiv pentosefosfatvei) reguleres av lys. Overføres planter fra mørke til lys er det en induksjonsperiode før CO<sub>2</sub>-assimilasjonen blir stabil. Det skjer ingen CO<sub>2</sub> assimilasjon i mørke og følgende fem enzymer i Calvinsyklus reguleres av lys: rubisko, NADPH-glyceraldehyd-3-fosfat dehydrogenase, fruktose-1,6-bisfosfat fosfatase, seduheptolose-1,7-bisfosfat fosfatase, rubisko aktivase, ATP syntase og ribulose-5-fosfat kinase. Lyskontrollen skjer ved reduksjon-oksidasjon av disulfid via **ferredoksin-thioeredoksin**. Thioeredoksin overfører signalet om redokspotensialet i kloroplasten. Ferredoksin-thioeredoksin beskytter også mot reaktive oksygenforbindelser.

Aktiveringen skjer ved at elektroner fraktes fra redusert ferredoksin til svovelproteinet thioeredoksin katalysert av ferredoksin-thioeredoksin reduktase. Ferredoksin inneholder to jernatomer og to svovelatomer per molekyl. Ferredoksin kan overføre elektroner til NADP<sup>+</sup>, glutamat syntetase, nitritt reduktase, thioeredoksin og sulfitt reduktase. Redusert thioeredoksin reduserer disulfidbindinger og gir frie SH-grupper i proteiner. -S-S- gir inaktivt enzym og -SH SH- gir aktivt enzym.

Thioeredoksin er proteiner med aktive disulfidgrupper, og ferredoksin eller NADPH brukes til å lage thioeredoksin i redusert form som igjen kan redusere disulfidbindinger i andre proteiner. Hos C<sub>4</sub>-planter aktiveres NADP-malat dehydrogenase av thioeredoksin.

Rubisko aktiveres også av Mg<sup>2+</sup> og CO<sub>2</sub> hvor CO<sub>2</sub> reagerer med ε-NH<sub>2</sub> på et lysin i det aktive sete i en karbamyleringsreaksjon. Deretter bindes magnesium i et rubisko-CO<sub>2</sub>-Mg<sup>2+</sup>-kompleks. **Rubisko aktivase** er et enzym som fjerner ribulose-1,5-bisfosfat fra en dekarbamylert inaktiv form av rubisko ved hjelp av ATP, og gir konformasjonsendring til aktiv form av rubisko. Aktivase inneholder ATPase og chaperonase. De to typer protein i aktivase er dannet ved alternativ spleising av pre-mRNA.

**2- karboksyarabinitol-1-fosfat** ligner et ustabil C<sub>6</sub>-intermediat og er en inhibitor som bindes til rubisko slik at enzymet ikke kan aktiveres av aktivase. Det er mest karboksyarabinitol om natten.

Rubisko-aktiviteten øker i lys. Lys gir mer basisk stroma, økning fra pH 7 til 8 i lys, og økning i konsentrasjonen av magnesium (Mg<sup>2+</sup>). Høyere pH passer bedre med pH optimum for enzymene i Calvin syklus.

Triosefosfat byttes mot fosfat via fosfattranslokatoren i kloroplastmembranen. Tilgangen på fosfat kan derved også være med å regulere Calvin-syklus.

## C<sub>4</sub>-fotosyntese



Calvin og medarbeidere viste at det første stabile produktet etter CO<sub>2</sub> assimilasjon i grønnalgen *Chlorella* var 3-fosfoglycersyre. På 1950-tallet viste Kortschak <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> ble omdannet til C<sub>4</sub>-syrer i sukkerrør. Karpilov viste det samme i mais. M.D. Hatch og C.R. Slack viste med <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> at malat (eplesyre) var det første stabile radioaktive produktet i fotosyntesen hos mais og sukkerrør, og at det var en C<sub>4</sub>-fotosyntetisk karbonsyklus.

Mais, sukkerrør, hirse, *Sorghum*, *Atriplex*, *Amaranthus* og tropiske savannegress har C<sub>4</sub>-dikarboksylysyrer (malat eller aminosyren aspartat) som stabile mellomprodukter og blir derfor kalt C<sub>4</sub>-planter. Denne typen fotosyntese blir kalt C<sub>4</sub>-metabolisme. Det finnes også **enkeltcelle C<sub>4</sub>-metabolisme** i grønnalger, diatoméer, vannplanter og landplanter.

Planter som har C<sub>4</sub>-metabolisme har to typer celler som samarbeider (krans-anatomi).

- 1) Ledningsstrengslireceller som ligger rundt ledningsstrengene og inneholder kloroplaster plassert sentrifugalt.
- 2) Vanlige mesofyllceller i bladet med kloroplaster uten stivelseskorn, men med stabile thylakoider.

C<sub>4</sub>-plantene kan inndeles i 3 hovedtyper. Det er forskjellige variasjoner i C<sub>4</sub>-fotosyntese avhengig av om det lages malat eller aspartat. Inndelingen avhenger også av hvordan de dekarboksyleres og hva som returneres etter dekarboksylering (pyruvat eller alanin). C<sub>4</sub>-planter som har:

- 1) NADP-avhengig malat enzym i kloroplastene (NADPH-ME).
- 2) NAD-avhengig malat enzym i mitokondriene (NAD-ME).
- 3) fosfoenylpyruvat karboksykinase (PEP-KK).

Først lages C<sub>4</sub>-syrer ved karboksylering av fosfoenylpyruvat i mesofyllcellene som deretter fraktes til liirecellene. C<sub>4</sub>-syrene dekarboksyleres i liirecellene, frakter CO<sub>2</sub> som i høy konsentrasjon gir lav fotorespirasjon. Deretter fikses frigitt CO<sub>2</sub> i Calvin-syklus i de grønne liireceller med kloroplaster som er karakteristisk for C<sub>4</sub>-metabolisme. Transporten av C<sub>4</sub>-syrer og andre C<sub>4</sub>-metabolitter skjer gjennom plasmodesmata.

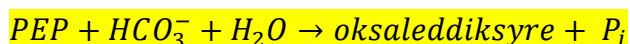
C<sub>4</sub>-plantene har høy aktivitet av enzymet karbon anhydrase i mesofyllcellene, men lav aktivitet i liirecellene. Dette gjør at konsentrasjonen av HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, substratet for PEP-karboksyylase, øker i mesofyllcellene. Liirecellene har lav permeabilitet for CO<sub>2</sub>, noe som bidrar til høyt partialtrykk av CO<sub>2</sub> der hvor rubisko befinner seg. Det vil også bety lav konsentrasjon av karbondioksid i intercellularrommene, noe som gir en brattere CO<sub>2</sub>-gradient fra utsiden. Temperaturoptimum for PEP-karboksyylase er også høyere enn for rubisko. Reassimilering av CO<sub>2</sub> fra mitokondriell respirasjon i epler gjør at malat akkumuleres i frukten. C<sub>4</sub>-syklus har et høyere energikrav enn Calvinsyklus og krever 2 ATP ekstra, i alt 5ATP og 2 NADPH for hvert CO<sub>2</sub> fiksert.

## C<sub>4</sub>-planter tilpasset tørke og høy lysintensitet

De fleste C4-plantene finnes i tropisk og varmt klima, med optimum 30-40 °C for fotosyntese og tåler høye lysflukser og lite nitrogen. Gras på savanner er ofte C4-planter. Fotosyntesen hos C4-planter synker raskt under 10°C. Ca. 1% av alle plantene er C4-planter. C4-planter kan forekomme i den tempererte sone f.eks. havstrandgras som *Spartina townsendii* og *Spartina anglica*.

## Karboksylering i mesofyllcellene

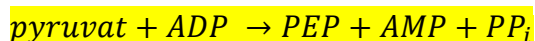
**PEP-karboksyrase** katalyserer reaksjonen mellom bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) og fosfoenolpyruvat (PEP). Vi kjenner til bruken av bikarbonat som natron ( $\text{NaHCO}_3$ ) eller hornsalt ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ). Enzymet bruker bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ , hydrogenkarbonat) som substrat istedet for  $\text{CO}_2$ . Produktet blir oksaleddiksyre (oksaloacetat) :



Affinitet til karbon for enzymet PEP-karboksyrase er mye høyere (lav  $K_m$ -verdi) enn for rubisko og enzymet har derved lavere  $K_m$ -verdi.

Det finnes flere forskjellige PEP-karboksyrase i planter, relatert til forskjellige biosynteseveier. Aktiviteten til PEP-karboksyrase reguleres via fosforylering og defosforylering.

Pyruvat importeres til mesofyllkloroplastene hvor PEP gjendannes katalysert av **pyruvat  $\text{P}_i$ -dikinase** i stroma i kloroplastene:



Adenylat kinase omdanner AMP til ADP

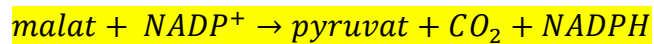
Dette enzymet omdanner ATP til AMP og det trengs 2 ATP for å bringe AMP tilbake til ATP, noe som forklarer det høyere energikravet hos C4-planter sammenlignet med C3-planter. Pyruvat-fosfat dikinase inaktiveres av ADP-avhengig fosforylering ved lav lysfluks.

Fosfoenolpyruvat fraktes ut i cytoplasma hvor PEP-karboksyrase befinner seg. Oksaleddiksyre fraktes til kloroplasten hvor den omdannes til malat (eplesyre) katalysert av **NADP-malat dehydrogenase**:



NADP-malat dehydrogenase påvirkes av lys og kan bli aktivert av **thioredoxin** hvor enzymet med -SH er aktivt og -S-S- er inaktivt. Malat fraktes til slirecellene hvor den blir dekarboksylert.

Noen C4-planter lager aspartat (asparaginsyre) istedet for malat katalysert av **aspartat aminotransferase** som finnes i cytoplasma i mesofyllcellene. Dekarboksyleringen av malat skjer i slirecellene katalysert av **NAD(P)-malat enzym** i kloroplastene:



Pyruvat dannet i reaksjonen fraktes tilbake til slirecellene gjennom plasmodesmata. Malat-dannere trenger mer NADPH enn aspartatdannere. Mitokondrier inneholder NAD-malat-enzym.

*Panicum maximum* har høyt innhold av aspartat aminotransferase og CO<sub>2</sub> kommer fra dekarboksylering av oksaleddiksyre katalysert av **PEP karboksykinase** i cytosol



C4-plantene har et lavt **CO<sub>2</sub>-kompensasjonspunkt** (0-5 ppm CO<sub>2</sub>) sammenlignet med C3-plantene (35-70 ppm), og de mister lite CO<sub>2</sub> i fotorespirasjonen siden C4-syklus virker som en oppkonsentrerende CO<sub>2</sub>-pumpe. Om natten på PEP karboksylase aktiviteten reduseres, og enzymet hemmes av malat og aktiveres av glukose-6-fosfat. Hos CAM-planter er følsomheten for malat høyere om dagen og det finnes dag- og nattformer av PEP-karboksylase som styres via fosforylering/defosforylering.

Lys regulerer flere enzymer i C4-metabolismen:

- 1) PEP karboksylase regulert av lysavhengig fosforylering.
- 2) NADP-malat dehydrogenase via thioredoksin.
- 3) Pyruvat-P<sub>i</sub>-dikinase regulert av ADP-avhengig fosforylering.

Assimilering og reduksjon av ett molekyl karbondioksid hos C3-planter trenger tre molekyler ATP og 2 molekyler NADPH. Det er to måter det går an å skaffe seg ekstra ATP i forhold til NADPH og det er syklisk og pseudosyklisk elektrontransport. **Syklisk elektrontransport** rundt fotosystem I hvor elektroner fra ferredoksin eller NADPH fraktes tilbake til plastokinon og P700 via cytokrom b/f-komplekset og plastocyanin. pH gradienten kan regulere elektronstrømmen. Er det ikke NADP<sup>+</sup> tilgjengelig fordi alt er redusert vil elektroner gå inn i syklisk og pseudosyklisk elektrontransport.

Blad med C4-fotosyntese trenger 5 ATP og 2 NADPH for hver CO<sub>2</sub> redusert. Mesofyllcellene har samme ATP og NADPH krav som C3 plantene, men slirecellene har ekstra krav på ATP, laget ved syklisk elektrontransport rundt PSI og NADPH kan lages ved malatdekarboksylering.

Plantene *Borszczowia aralocaspica* og *Bienertia cycloptera* har oppkonsentrering av CO<sub>2</sub> og C4-syklus i kompartementer i en celle. Kloroplastene med rubisko ligger nær inntil mitokondrier med malatenzym som frigir CO<sub>2</sub>.

C4-planter utnytter nitrogen mer effektivt enn. C3-planter kan inneholde opptil fem ganger så mye rubisko som C4-planter, slik at C3-plantene har større behov for nitrogen enn C4-plantene.

I C4 plantene opererer rubisko ved CO<sub>2</sub>-metning, men hos C3-planter opererer

rubisko med bare 25 % av sin kapasitet. I C3- planter er 50 % av bladproteinet rubisko, sammenlignet med bare 5-10 % hos C4-planter, og bare ca. 4% ekstra nitrogen trengs til PEP-karboksylase. Det er imidlertid vanskelig å dele strengt i C3- og C4-planter fordi CO<sub>2</sub>assimilasjon skjer i stor skala i reproduktive organer hos C3-planter, korn, erter, frukt. Dette kan indikere mer effektiv utnyttelse av karbondioksid i disse organene selv om de mangler kransanatomi. PEP-karboksylase er også velfungerende i Crassulaceae og Bromeliaceae som er veltilpasset til tørre områder. Dette er sukkulenter som har lite overflateareal i forhold til hver enhet med friskvekt. CAM plantene skiller seg fra C4- plantene på flere måter: Stomata er åpne om natten og lukket dagen. CO<sub>2</sub> kommer inne i bladene og assimileres via PEP-karboksylase i cytoplasma og oksaleddisyre reduseres til malat som lagres i vakuolen.

## CAM-fotosyntese

Denne typen fotosyntese har fått navn etter plantefamilien Crassulaceae hvor man kjente til at det var en døgnvariasjon i innholdet av den organiske syren malat (eplesyre). Andre arter med denne typen metabolisme er ananas, vanilje, *Agave*, *Kalanchoe*, *Bryophyllum*, kaktus (*Cactaceae*), *Euphorbia*-arter og orkidéer (*Orchidaceae*). Sukkulenter har tykk kutikula, lavt overflate/volum forhold, store vakuoler, redusert frekvens av spalteåpninger og som er lukket om dagen og åpne om natten.

CAM-metabolisme ("crassulacean acid metabolism") finnes i planter som vokser i ørkenstrøk med stor variasjon i dag- og nattetemperatur, og fuktighet. Mange CAM-planter har sukkulent utseende. Cellene har store vakuoler som kan lagre malat, vann og fosfat. Om dagen omdannes malat til CO<sub>2</sub> og pyruvat. Spalteåpningene lukkes om dagen og malat fungerer som CO<sub>2</sub>-lager.

Dette gir stor endring i pH i vakuolen fra dag til natt. ATPase og pyrofosfatase (PP<sub>i</sub>-ase) deltar i malattransporten. *Mesembryanthemum crystallinum* er en induserbar (fakultativ) CAM-plante som skifter mellom å være C3-plante og CAM-plante avhengig av vanntilgang, salinitet, temperatur og lysintensitet. CAM kan induseres av korte dager og tørke. Derfor kan sukkulenter være C3-planter når de har god vanntilgang og skifte til CAM-metabolisme under tørre og varme betingelser. Det er mange likheter i metabolisme mellom C4-planter og CAM-planter, men den viktigste forskjellen er at dannelsen av C4-syrer og dekarboksylering er atskilt i tid hos CAM-plantene.

CAM-planter har romlig og tidsavhengig atskillelse av CO<sub>2</sub>-fiksering i C4-syrer og CO<sub>2</sub>-fiksering i Calvin-syklus. Om natten lages malat i cytosol katalysert av **PEP-karboksylase**. PEP karboksylase finnes i to former styrt av sirkadiske rytmer. En fosforylert form som ikke påvirkes av malat og som er aktiv om natten og en inaktiv dagform hvor fosfat er fjernet via fosfatase og som hemmes av malat. PEP-karboksylase aktivitet reguleres av fosforylering og defosforylering. Oksaleddisyre omdannes til malat katalysert av **NAD-malat dehydrogenase**. Fosfoenolpyruvat (PEP) som brukes til CO<sub>2</sub>-fikseringen kommer fra karbohydrater via

glykolysen. Malat fraktes inn i store vakuoler hvor den lagres inntil dagtid. I løpet av dagen hvor spalteåpningene holdes lukket fraktes malat til kloroplasten hvor malat dekarboksyleres av **NADP-malat enzym**. Malat kan dekarboksyleres ved NAD(P)-malat enzym eller PEP-karboksykinase. Frigitt CO<sub>2</sub> assimileres i Calvin syklus. Lagret oksalediksyre kan dekarboksyleres av **PEP karboksykinase** i en ATP-avhengig reaksjon hvor produktene blir CO<sub>2</sub> og fosfoenolpyruvat.

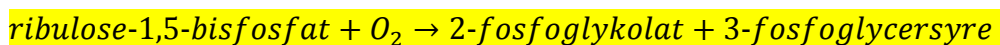
Med CAM-metabolisme reduseres vanntapet i planten betydelig. Den høye indre CO<sub>2</sub> konsentrasjonen får spalteåpningene til å lukke seg og fotorespirasjonen reduseres. Neddykkete vannplanter har C4- eller CAM-metabolisme.

Fakultative halofytter kan skifte til CAM-metabolisme ved saltstress og tørkestress. CAM-planter taper 50-100 g H<sub>2</sub>O per g CO<sub>2</sub> fiksert. De tilsvarende tall for C4 er 250-300 g H<sub>2</sub>O og for C3 400-800 g H<sub>2</sub>O.

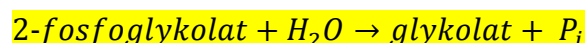
Karbon i atmosfæren finnes som de stabile isotopene C-12 og C-13, og den radioaktive C-14. <sup>12</sup>CO<sub>2</sub> er lettere enn <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> og diffunderer raskere, men rubisko skiller mer mellom disse isotopene enn pepkarboksyrase. Det viser seg at C3-planter har et delta C-13 forhold ( $\delta^{13}\text{C}$ ) lik ca. -28‰ og C4-planter har  $\delta^{13}\text{C}$  ca. -14‰. C3-planter som utsettes for tørke får en mer positiv  $\delta^{13}\text{C}$ .

## Fotorespirasjon

Oksygenutviklingen under fotosyntesen kan være 100 ganger større enn oksygenopptaket i mørke. I lys har C3-planter lysavhengig opptak av oksygen og utskillelse av CO<sub>2</sub> koblet til syntese og metabolisme av glykolat, kalt fotorespirasjon. Rubisko har oksygenaseaktivitet hvor oksygen og karbondioksid konkurrerer om binding til samme aktive sete på enzymet. Siden både oksygen og karbondioksid konkurrerer om binding til rubisko blir konsentrasjonen av disse gassene viktig for fotosyntesen. Oksygenaseaktiviteten til rubisko gir 2-fosfoglykolat og 3-fosfoglycерыsyre ved binding av O<sub>2</sub> istedet for CO<sub>2</sub>.

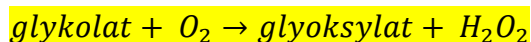


Fosfoglykolat kan bli resirkulert tilbake til 3-fosfoglycерыsyre, men ca. 25 % tapes som CO<sub>2</sub> i mitokondriene. I motsetning til vanlig respirasjon i mitokondriene hvor det lagres energi, forbruker fotorespirasjonen energi. Opptil 40 % av assimilert karbon i fotosyntesen kan tapes via fotorespirasjon. Fosfoglykolat er substrat i den fotorespiratoriske omsetningsveien som resulterer i tap av CO<sub>2</sub>. Fosfoglykolat hydrolyseres til glykolat katalysert av fosfoglykolat fosfatase:

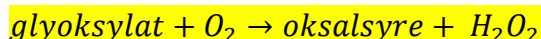


Glykolat overføres til peroksysomene hvor glykolat oksideres av glykolat oksidase til glykoxylat og hydrogenperoksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Hydrogenperoksid er skadelig, derfor skjer

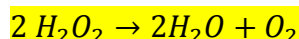
reaksjonen i peroksysomer, og hydrogenperoksid nedbrytes av enzymet katalase. **Glykolat oksidase** som er et FMN-enzym:



Dette enzymet kan også oksidere glykoxylat til oksalsyre:



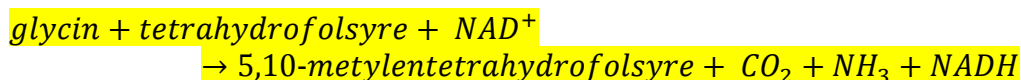
Noen alger bruker glykolat dehydrogenase istedet for glykolat oksidase. Hydrogenperoksid som lages av glykolat oksidase fjernes av katalase i peroksysomene:



Glykoxylat omdannes til aminosyrene glycin katalysert av **glutamat-glykoxylat aminotransferase**:

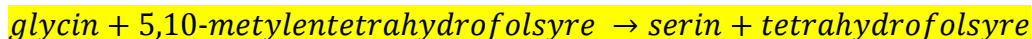


Glycin fraktes deretter til mitokondriene hvor to molekyler glycin gir ett molekyl av aminosyren serin og CO<sub>2</sub>. Glycindekarboksyleringen er koblet til en serin hydroksymetyltransferase:



Glykoxylat transamineres ved hjelp av glutamat til aminosyren glycin. Glycin fraktes til mitokondriene hvor to molekyler glycin omdannes til serin og samtidig avigs CO<sub>2</sub> (fotorespirasjon) og ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Denne reaksjonen katalyseres av serin hydroksymetyltransferase og bruker metylen-tetrahydrofolinsyre som overfører av en-karbonet.

C1-tetrahydrofolinsyre kan brukes til overføring av en-karbon, men i fotorespirasjon kondenseres den til ett molekyl til med glycin:



Serin fraktes tilbake til peroksisomene hvor serin ved transaminering omdannes til hydroksypyruvat etterfulgt av reduksjon til glycersyre katalysert av hydroksypuruvat reduktase. Glycersyre fraktes tilbake til kloroplasten hvor det ved hjelp av ATP omdannes til 3-fosfoglycersyre katalysert av en kinase.

Ammonium dannet i fotorespirasjon blir reassimilert via glutamat og glutamin (GS-GOGAT) i en **fotorespiratorisk nitrogencyklus**.

Ved økt temperatur er CO<sub>2</sub> mindre løselig enn oksygen slik at forholdet forrykkes med økt fotorespirasjon som resultat.

Hvorfor plantene har fotorespirasjonen har er omdiskutert. Siden også anaerobe



fotosyntetiske bakterier har oksygenaseaktivitet i rubisko kan det er evolusjonære relikter som i utgangspunktet var tilpasset en lavere oksygenkonsentrasjon. Det mest sannsynlige er at fotorespirasjonen beskytter plantene mot fotooksidasjon og fotoinhibering ved å senke oksygenkonsentrasjonen. Fotorespirasjon fjerner ATP, reduksjonskraft og oksygen.

Økende temperatur påvirker løseligheten av CO<sub>2</sub> og ved økende temperatur minker konsentrasjonen av CO<sub>2</sub> mer enn O<sub>2</sub>, noe som gir økt fotorespirasjon ved økende temperatur.

C4-planter, CAM-planter, alger og blågrønnbakterier kan oppkonsentrere CO<sub>2</sub> i nærheten av rubisko og på denne måten unngå fotorespirasjon. Aktiv innpumping av bikarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) og deretter overføring av bikarbonat til CO<sub>2</sub> katalysert av **karbon anhydrase** kan gi anrikning av karbondioksid og derav lavere fotorespirasjon.

Mange alger har ikke fotorespirasjon grunnet oppkonsentrering av CO<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub>-pumpen i alger er en gasskanal som er homolog med Rheus protein i erytrocytter i blodet.

CO<sub>2</sub> og HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> pumper i plasmamembranen ved lav konsentrasjon av CO<sub>2</sub> er assosiert med NAD(P)H dehydrogenase. I cyanobakterier fraktes hydrogenkarbonat i cytosol til **karboksosomer** bestående av rubisko omgitt av et proteinskall.

## Fotosyntese hos lys- og skyggeplanter

En tett bestand av planter gir en betydelig skyggeeffekt. Ved skrå belysning og med lite optimal plassering av bladene skal det mye til at fotosyntesen er mettet med lys for alle bladene på en plante. Fotosyntesehastigheten er avhengig av lysintensiteten, det vil si hvor mange lyspartikler klorofyllmolekylene kan ta opp. I mørke og svakt lys dominerer respirasjonen (celleåndingen). Etterhvert som lysintensiteten øker stiger fotosyntesen inntil maksimum. En skyggeplante når metning av fotosyntesen ved en lavere lysfluks enn en solplante. Lysintensiteten på **lysresponskurven** hvor åndingen og fotosyntesen oppveier hverandre, kalt **lyskompensasjonspunktet**, varierer fra skyggeplanter til solplanter og er ved henholdsvis ca. 0.5 % og 5 % av fullt sollys. Grunnen til forskjellen er at skyggeplantene har lavere respirasjon enn solplantene. Fotosyntesen hos skyggeplantene er mettet ved ca. 5% av fullt sollys og for solplantene ved ca. 60 %. Den initielle lineære delen av lysresponskurven gir et mål på **kvantutbytte**. **Spektralfordelingen** av lyset endrer seg i vegetasjonsskyggen sammenlignet med sollyset, hvor det blir en større mengde mørkerødt lys sammenlignet med rødt lys i vegetasjonsskyggen. Denne forskjellen i rødt og mørkerødt lys registreres av fytokromsystemet.

I en tett skog har solglimt gjennom løvverket ned til skogbunnen har stor betydning for skyggeplantene som vokser der, spesielt i tropisk regnskog. Opptil 30-60 % av fotosyntesen skjer i lysglimtene.

Fotosyntese fra 1 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> for skygge planter opptil 50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> for solplanter.

## Åpning og lukking av spalteåpninger

På blader og stengler finnes spalteåpninger som virker som regulerbare ventiler. De ligner på små munnåpninger og akkurat som en munn, kan de åpne og lukke seg. Lukkecellene i spalteåpningen er grønne i motsetning til andre celler i epidermis. I 1856 foreslå Hugo van Mohl at turgor er drivkraften bak spalteåpning. I 1908 mente man at turgor skyldes overgangen fra stivelse til sukker med osmotiske endringer og denne teorien holdt seg til 1943 hvor fluksen av kalium ( $K^+$ ) inn i lukkecellene ble oppdaget. Spalteåpning er regulert av vanntilgang, lysintensitet, lyskvalitet, relativ fuktighet og konsentrasjonen av karbondioksid i intercellularrom innenfor spalteåpningene.

Lukkecellene er konstruert slik at spalten mellom dem lukker seg når lukkecellene mister vann, og åpner seg når de tar opp vann. Lukkeceller med elastiske vegger kan endres mye i volum. Lukkecellene hos tofrøbladete og noen enfrøbladete, bregner og gymnopsformer er nyre- eller bønneformete. Lukkecellene har tykk inner- og lateralvegg og tynn dorsalvegg mot epidermiscellene og noe tykkere vegg mot poren. I vanlige celler er cellulose mikrofibrillene transversert plassert på lengdeaksen, men hos lukkecellene går mikrofibrillene radiallyt ut fra poren. Naboceller, lukkeceller og spalten danner til sammen et stomatakomples. Noen spalteåpninger har vanlige epidermisceller som naboceller.

Grunnstoffet kalium deltar i denne vanntransporten. Går kalium ut av lukkecellene og inn i nabocellene følger vann etter og veggens form gjør at spalten lukker seg. Går kalium fra nabocellen inn i lukkecellene kommer vann inn og spalten åpner seg.  $K^+$  opptaket skjer via **spenningsregulerte  $K^+$  kanaler**. Opptaket av klorid ( $Cl^-$ ) skjer ved  $Cl^-H^+$  symport. Klorid tas opp i lukkecellene ved åpning av stomata, og skilles ut ved lukking. Hos gras er lukkecellene manualformet og spalten er mellom "håndtakene". Deler av celleveggen er spesielt fortykket. En utvekst i hver ende av lukkecellene tar opp vann og presser opp spalten. Når stomata er lukket inneholder lukkecellene ca. 100 mM  $K^+$ , og når stomata er åpen inneholder lukkecellene 400-800 mM  $K^+$ . Ladningen blir balansert av klorid og malat (malat<sup>2-</sup>). Malat lages i cytosol i lukkecellene, og konsentrasjonen av malat synker i lukkecellene når stomata lukkes. Malat brukes i respirasjon.

Utover dagen blir sukkerinnholdet større og sukrosekonsentrasjonen får større betydning enn  $K^+$  for åpning av stomata. Sukrose kommer fra stivelse og fotosyntese, tatt opp fra apoplast.

Spalteåpningenes areal er bare 1-2 % av det totale bladarealet, men det er allikevel store mengder vann som fordamper ut av disse. Omtrent 90 % av plantenes vanntap skjer via spalteåpningene. De resterende 10 % går igjennom kutikula. Karbondioksid som plantene trenger i fotosyntesen for å kunne vokse kommer gjennom spalteåpningene. Får planten for lite vann fra jorda lages plantehormonet abscisinsyre og spalteåpningene lukkes. Hvis fotosyntesen stopper opp for en tid gjør det ingen skade på kort sikt. Lukkingen av spalteåpningene gir større reduksjon i vanntapet enn den påvirker transporten av karbondioksid inn i bladet. Nok oksygen



får plantene selv om spalten er lukket siden det er nesten 600 ganger så mye oksygen som karbondioksid i lufta.

Ved god vanntilførsel er konsentrasjonen av karbondioksid inne i bladet viktig for åpning og lukking av spalteåpningen. Ved høy konsentrasjon, som betyr at fotosyntesen har rikelig tilgang på karbondioksid, lukkes spalten. Ved lav konsentrasjon åpnes spalten for å få mer karbondioksid til plantens fotosyntese. Dette betyr i praksis at spalten er åpen i lys, hvor blått lys er mest effektivt til å lage åpning, og lukket i mørke.

Både karbondioksid og vann beveger seg alltid fra det stedet hvor det er høyest konsentrasjon til dit hvor det er lavest. Under aktiv fotosyntese betyr dette at vann går ut av bladet til luften omkring og karbondioksid går inn i bladet. I vindstille vær kan det dannes et lag med stabil luft rundt spalteåpningene slik at luftfuktigheten her øker. Dette gir mindre vanntap. Planten kan redusere vanntapet ved å plassere lukkecellene nedsenket i forhold til epidermis eller ved å skape luftstille rom rundt spalteåpningene ved hjelp av hår. Gras minsker vanntapet ved å rulle sammen bladet.

Sukkulenter som vokser i tørre, varme strøk åpner spalteåpningene om natten og binder karbondioksid fra lufta inn i organiske syrer som lagres i vakuolen. Om dagen når den drepende varmen kommer lukkes spalteåpningene og planten har et lager av karbondioksid inne i planten som den kan benytte på dagtid.

Ved å studere herbariemateriale fra de to siste århundre har det vist seg at antall spalteåpninger blir færre ettersom konsentrasjonen av karbondioksid i lufta øker.

Det er vanligvis fra 50-300 stomata per  $\text{mm}^2$ . Hos mjødukt (*Filipendula ulmaria*) har man funnet 1300 stomata per  $\text{mm}^2$ . Oliventreets blad har ca 600 spalteåpninger per  $\text{mm}^2$  på undersiden. Et eikeblad har et par millioner spalteåpninger, et middels stort kålblad har 11 millioner (oversiden 400, undersiden 700). Hos gras og bartrær er spalteåpningene plassert i lengderekker.

Det finnes ofte stivelseskorn og rundt osmiofile (binder osmium) legemer rike på fett kalt **plastoglobuli**, inneholder lipider og plastokinin og tokoferylkinon. Kloroplasten inneholder flere kopier av sirkulært DNA.

Zeaxanthin kan være en fotoreseptor i lukkeceller, og absorpsjonsspekteret for zeaxanthin er likt aksjonsspekteret for åpning av stomata.

$\text{H}^+$ -ATPase hemmes av vanadat. Noen sopp gir uttørking av planter ved at spalteåpningene står oppe hele tiden. Fusicoccin fra sopp stimulerer  $\text{H}^+$ -ATPase.

## Fosfat- og dikarboksyilattranslokator

Fosfat fraktes inn i stroma fra cytosol i antiport bytte med dihydroksyacetofosfat (triosefosfat). Dihydroksyacetofosfat omdannes til 3-fosfoglycensyre via 3-fosfoglyceraldehyd som gir NADH og 1,3-difosfoglycensyre som igjen gir ATP og 3-

fosfoglycersyre. På denne måten kommer ATP og NADH ut i cytoplasma. 3-fosfoglycersyre fraktes inn i kloroplasten i bytte mot fosfat som igjen reduseres til dihydroksyacetonfosfat i kloroplasten. For kloroplaster i frukt er ikke fotosyntesen hovedfunksjonen, men biosyntese. I disse kloroplastene er det en heksosefosfat translokator som frakter glukose-6-fosfat.

Dikarboksyilattranslokator frakter dikarboksylysurer som oksaleddiksyre, malat, aspartat og 2-oksoglutarat over kloroplastmembranen. Kan brukes til å frakte reduserende ekvivalenter over membranen

## Oppkonsentrering av CO<sub>2</sub> i planten

Konsentrasjonen av CO<sub>2</sub> i vann i likevekt med luft er ca. 10 μM. Sammenlignet med dette er K<sub>m</sub>-verdien for CO<sub>2</sub> til rubisko mellom 15-25 μM hos C3-planter og hos blågrønnbakterier kan K<sub>m</sub>-verdien være opptil 200 μM. Derimot er PEP karboksylase mettet med substrat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) under de samme betingelsene. Hos C4-plantene oppkonsentreres CO<sub>2</sub> i slirecellene via transport av C4-syrer. I motsetning til hos planter hvor rubisko er spredt rundt i stroma i kloroplastene ligger rubisko i **karboksysomer** hos blågrønnbakterier og i **pyrenoid** i alger.

**Karbon anhydrase** er et zinkenzym som katalyserer likevekten mellom bikarbonat og karbondioksid:



Moroney, J.V. & Somanchi, A.: How do algae concentrate CO<sub>2</sub> to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation ? Plant Physiol. 119 (1999) 9-16.

## CO<sub>2</sub> tilførsel og etterspørsel - CO<sub>2</sub> responskurver

Fotosyntesen kan beskrives via tilførsel- og etterspørselfunksjoner. CO<sub>2</sub> responskurven viser sammenhengen mellom CO<sub>2</sub> assimilasjonen (A) og den indre CO<sub>2</sub> konsentrasjonen (C<sub>i</sub>) og kalles A/C<sub>i</sub> kurver. CO<sub>2</sub> fluksen (J<sub>CO2</sub>) bestemmes av CO<sub>2</sub>-konduktansen (g<sub>CO2</sub>) og forskjellen mellom indre CO<sub>2</sub> konsentrasjon (c<sub>i</sub>) og den utenfor (c<sub>a</sub>).

$$J_{CO_2} = g_{CO_2}(c_a - c_i)$$

Denne kan skrives som **fotosyntesens forsørgerfunksjon** og sier noe om tilgangen på CO<sub>2</sub>:

$$J_{CO_2} = -g_{CO_2} \cdot c_i + g_{CO_2} \cdot c_a$$

som blir en rett linje. Fotosyntesens behovsfunksjon (etterspørselsfunksjon) vil når A er lik null angi **CO<sub>2</sub>-kompensasjonspunktet**. Når den indre CO<sub>2</sub> konsentrasjonen

stiger vil A stige lineært, og i dette området av kurven er CO<sub>2</sub> den begrensende faktor og reaksjonen er mettet med ribulose-1,5-bisfosfat (RuBP). Øker den indre CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen ytterligere blir det mangel på RuBP og kurven for forsørgerfunksjonen flater av. Begrensningen i tilgangen på RuBP avhenger av aktiviteten til Calvinsyklus og hvor mye ATP og NADPH fra lysreaksjonen som er tilgjengelig.

Både grenselagskonduktansen og stomatakonduktansen vil bestemme hvor mye CO<sub>2</sub> som er tilgjengelig.

## Gamle fotosynteseforsøk

Det er ikke lett å finne gode og enkle demonstrasjonsforsøk som viser prinsippene for fotosyntesen. Slike forsøk har vært å sette en trakt over en vannplante som vasspest (*Elodea*) eller *Cabomba* i sollys og samle opp gassen som kommer ut som små bobler fra planten er forsøk som har blitt gjort helt fra Ingenhouss dager frem til idag. I mørke kommer det ikke bobler. Luftboblene er noe anriktet med oksygen. En annen måte å studere kullsyreassimilasjonen er Sachs jodprøve. Deler av bladet belyses, klorofyll fjernes ved ekstraksjon og med jod/kaliumjodid løsnings (giftig) kan man se hvor det lages stivelse i lys. Vanlig er å bruke blad av *Pelargonium* eller blomkarse (*Tropaeolum*). Klorofyllet kokes ut i varm etanol (brannfare! og støtkoking). Stivelsen lages bare lokalt i kloroplastene som belyses og jo mer lys desto mer stivelse. Stivelsen forsvinner om natten.

Sachs hadde allerede gjort forsøk som indikerte at planter kunne endre farge avhengig av lysintensiteten. Skyldes forflytning av kloroplaster som plasserer seg slik at de får mest mulig lys. Kloroplastene kan flytte seg i cellen til det stedet hvor det er mest ideelle lysforhold.

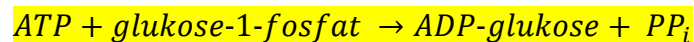
## Sukrose og stivelse lages når ?

Hovedendeproduktene etter CO<sub>2</sub> assimilasjonen og reduksjonen i blad er stivelse og sukrose, begge laget fra triosefosfater. Stivelse lages i plastider og sukrose lages i cytosol i cellene. Fiksert karbon fraktes ut i cytoplasma som triosefosfater som brukes i metabolismen eller fraktes til andre deler av planten. De fleste eukaryoter, unntatt bl.a. brunalger og rødalger frakter sukrose for kilde til forbrukssted. Sukrose kan også under visse betingelser lagres i vakuolen som i sukkerrør og sukkerbete. Ved perioder med høy CO<sub>2</sub> fiksering omdannes triosefosfater midlertidig til stivelse i kloroplasten. Kloroplastenes midlertidig lager for stivelse kan brukes i mørke og i perioder med lav fotosyntese.

Første trinnet i syntese av sukrose er dannelsen av UDP (uridindifosfat)-glukose fra UTP og glukose-1-fosfat katalysert av **UDP-glukose pyrofosforylase**:



Aktivering av glukose for syntese av stivelse katalyseres av ADP-glukose pyrofosforylase:



ADP-glukose pyrofosforylase aktiveres av 3-fosfoglycерыsyre og hemmes av uorganisk fosfat.

UDP-glukose inngår i mange reaksjoner i biosyntesen av cellevegger bl.a. syntese av cellulose, og kan omdannes til UDP-D-galaktose, UDP-D-glukuronsyre, UDP-D-arabinose, UDP-xylose, og UDP-L-rhamnose. UDP-glukose brukes i syntesen av  $\beta$ -glukaner hos gras. I reaksjon med GTP kan det lages GDP-glukose som videre kan gi GDP-D-mannose og GDP-L-galaktose.

## Kilde og brukssted

Et forbrukssted er en del av planten med netto import av fotosynteseassimilater. Dette er vev i aktiv vekst som unge blad som ikke har blitt selvforsynt, blomster, frukt, eller lagringsvev i røtter og jordstengler (rhizomer). For et blad vil det gjennom utviklingen skje en gradvis overgang fra forbrukessted, import av karbonforbindelser., til et produksjonssted (kilde) som eksporterer karbonforbindelser til andre deler av planten. Ved denne omvandlingen som skjer fra bladspissen mot basis endres utformingen av plasmodesmata mellom cellene. Floemet (silvevet) danner forbindelseslinje mellom kilde og forbrukssted. Sukrose kan lagres i vakuolen i fotosyntetiserende celler om dagen, men forsvinner om natten. Generelt vil stivelse kunne bli lagret midlertidig i kloroplasten når sukrose ikke klarer å fjerne alt det fotoassimilerte karbonet. Høyt nivå av sukrosefosfat syntetase gir høy sukrosesyntese. Forandringer i nivået av **fruktose-2,6-bisfosfat** i cytoplasma, en viktig reguleringsmetabolitt, skifter med lys og mørke. Fruktosebisfosfatase hemmes av fruktose-2,6-bisfosfat og minsker strømmen av karbon til sukrose.

Nærhet til kilden er viktig. De øvre bladene frakter assimilater til skuddspissen. Hvor sterkt forbruksstedet trekker på assimilater avhenger av utviklingstrinn til organet som trenger fotosynteseprodukter. Ofte kan det være en vertikal rekke av blad som frakter assimilater til et bestemt forbrukssted. Det er mulig for toppbladene å frakte assimilater ned til rota hvis bladene nedenfor er fjernet. Flaggbladet har f.eks. en sentral rolle ved fylling av fotosynteseprodukter i korn. Sukrose fraktes via plasmodesmata i symplasten, og i noen tilfeller over membranen via apoplasten bl.a. til embryo. Katabolismen av sukrose katalyseres av **invertase** og **sukrose syntase**. Det er sur invertase i cellevegger og sure vakuoler og alkalisk invertase i cytosol.

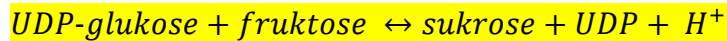
## Biosyntese av sukrose

Sukrose lages i cytosol fra glycerinaldehyd-3-fosfat og dihydroksyacetonfosfat som kommer fra kloroplasten. Syntesen av ATP i fotosyntese trenger fosfat, og uorganisk fosfat ( $P_i$ ) byttes med triosefosfater.

Sukrose lages kontinuerlig i cytosol, og mengden sukrose er regulert via mengden triosefosfater fra fotosyntesen og mengde sukrose transport vekk til andre deler av planten. Sukrose blir fraktet i floem til lagringssteder eller steder hvor det er aktiv vekst.

Sukrose (  $\alpha$ -glukopyranosyl- $\beta$ -D-fruktofuranosid) er et ikke-reduserende disakkarid. Fri energi ved hydrolyse av sukrose er  $-29 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Sukrose er lett løselig og kan samles i høye konsentrasjoner uten at metabolismen påvirkes, det er nøytralt og ikke-reduserende, men senker vannpotensialet. Sukrose kan fraktes lett over membraner, og virker som en beskyttet form av glukose.

Sukrose hydrolyseres til glukose og fruktose ved bruk av reversering av **sukrose syntetase**:

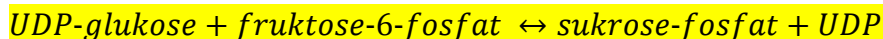


Sukrose syntase nedbygger sukrose til UDP-glukose og fruktose i nærvær av UDP. Sukrose syntase finnes i følgecellene.

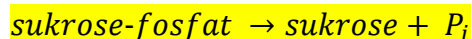
**UDP-glukose pyrofosforylase** katalyserer reversibel overføring av uridylgruppen til glukose-1-fosfat i en ATP-avhengig reaksjon:



Koblet til en pyrofosfatase gir et irreversibelt trinn i sukrosesyntese. Dette enzymet har mye høyere aktivitet enn ADP-glukose pyrofosforylase. **Sukrosefosfat syntase** lager sukrose-6-fosfat fra UDP-glukose og fruktose-6-fosfat:

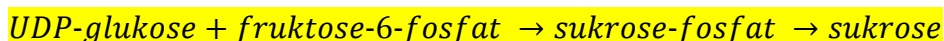
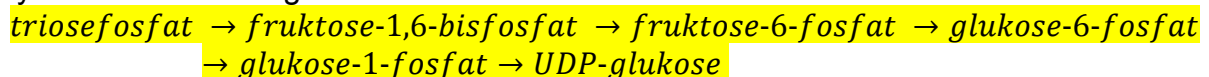


Sukrosefosfat spaltes deretter raskt av **sukrosefosfat fosfatase** til sukrose:



Aktiviteten til sukrose syntase er høy i vev som bruker sukrose f.eks. under frøutvikling, mens aktiviteten til sukrosefosfat syntase er høy i vev som lager sukrose. Aktiviteten til sukrosefosfat syntase er under regulering. Når det er mye hekosefosfat så aktiveres sukrosefosfat syntase av glukose-6-fosfat. En kinase som kan fosforylere sukrosefosfat syntase og redusere enzymaktiviteten hemmes av glukose-6-fosfat. Nedreguleringen av sukrosefosfat syntase økes av 14-3-3 proteiner, og ligner således på reguleringen av nitrat reduktase. Høy konsentrasjon av uorganisk fosfat hemmer sukrosefosfat syntase og hemmer også fosfatasen som eventuelt skulle ha oppregulert aktiviteten.

Synteseveien blir følgende:



De grønne plastidene i frøbladene hos erter er amyloplaster. Det er også grønne plastider i frøblad som lager olje under frøutviklingen.

Sukrose kan også være fruktosyldonor ved syntese av inuliner i syntese av raffinose.

Sukrose, raffinose og stachyose er karbohydrater som ofte akkumuleres i planter ved lav temperatur. Sorbitol er det fotosynteseproduktet som fraktes hos treaktige arter i rosefamilien og raffinose-sukker fraktes i noen planter. Sorbitol fraktes blad blad til sink hvor sorbitol omdannes til fruktose katalysert av sorbitol dehydrogenase.

Sukrose overføres fra følgecelle til silrør, ikke bare i symplast. Både C3- og C4-planter har slireceller som kan delta i transport av sukrose til floemet ved kotransport sukrose/H<sup>+</sup>. Vakuolen i sukkerbete har en sukrose-H<sup>+</sup> antiport.

Sukrose kan fraktes både oppover og nedover i planten, men ikke i samme silrør.

## Biosyntese av stivelse

Lagring av glukose som gir liten osmotisk effekt

Stivelse er en blanding av **amylose** og **amylopektin**. Amylose utgjør opptil 25 % av stivelsen og består av en lineær rekke  $\alpha$ -1,4-bundet D-glukose i en heliks.

Mesteparten av stivelsen er amylopektin som også har  $\alpha$ -1,6-D-glukosidbindinger.

Amylopektin (waxy) har fastere tekstur og større styrke enn amylose. Stivelse i stivelseskorn har lamellstruktur med alternerende semikrystallinske og amorfe lag.

Triosefosfat fraktes ut av kloroplasten i bytte mot ortofosfat. Dihydroksyacetonfosfat og 3-fosfoglyceraldehyd gir fruktose-1,6-bisfosfat ved aldolkondensasjon katalysert av fruktosebisfosfat aldolase. Fruktose 1,6-bisfosfat hydrolyseres til fruktose-6-fosfat katalysert av **fruktose-1,6-bisfosfatase** som er forskjellig fra isoenzymet i stroma. Fruktose-1,6-bisfosfatase i kloroplastene reguleres av thioeredoksin, mens det tilsvarende enzymet i cytosol er regulert av fruktose-2,6-bisfosfat og AMP.

**Fosfoglukose isomerase** omdanner fruktose-6-fosfat til isomeren glukose-6-fosfat som igjen omdannes til glukose-1-fosfat katalysert av fosfoglukomutase. Glukose-6-fosfat har en sentral rolle i flere biokjemiske synteseveier. Glukose-1-fosfat omdannes til ADP-glukose katalysert av **ADP-glukose pyrofosforylase** i en ATP-avhengig reaksjon. Både bakterier og plastider bruker ADP-glukose for å lage stivelse, og heksose tas opp av plastidene muligens i form av ADP-glukose. ADP-glukose fraktes til den ikke reduserende enden av stivelsesmolekylet. ADP-glukose pyrofosforylase aktiveres av 3-fosfoglycylsyre og hemmes av uorganisk fosfat. **Stivelse syntase** overfører glukose fra ADP-glukose til den ikke reduserende enden av  $\alpha$ -1,4-glukankjeden og lager en ny  $\alpha$ -1,4-glykosidbinding.  $\alpha$ -1,6-binding katalyseres av et **greiningsenzym**/stivelse syntase som lager amylopektinkrystaller. Det er to typer stivelse syntase.

Synteseveien for stivelse:

*triose-fosfat* → *fruktose-1,6-bisfosfat* → *fruktose-6-fosfat* → *glukose-6-fosfat*  
→ *glukose-1-fosfat* → *ADP-glukose* → *stivelse*

Stivelse syntase assosiert med granulær matriks lager amylose og forlenger lange



glukaner i amylopektin. Stivelse syntase fordelt mellom stroma og stivelseskorn lager

amylopektin. For å kunne lage amylopektin trengs isoenzymer av stivelse greiningsenzym. Biosyntese av stivelse påvirkes også av enzymer som hydrolyserer  $\alpha$ -1,6-bindinger, e.g. isoamylase og limitdekstrinase (pullulanase).

Stivelse kan lagres i kloroplasten om dagen og brytes ned fraktes i form av sukrose om natten. Noen planter f.eks. bygg lagrer sukrose om dagen, som brukes om natten.

Kloroplaststivelse er midlertidig stivelse i motsetning til lagringsstivelse i rot, rotstokk eller stamme. Plastidene inneholder stivelse fosforylase enzymer som overfører fosfat til endeglukosen og gir glukose-1-fosfat. Amyloplastene kan ta opp glukose-6-fosfat og glukose-1-fosfat. Amylopektin er krystallinsk ved at det dannes hydrogenbindinger mellom hydroksylgruppene i glukose til tilstøtende kjeder. Stivelse i vann gir en suspensjon, men stivelseskornene sveller ved oppvarming hvor amylopektin og amylose skiller lag. Ved avkjøling dannes det hydrogenbindinger mellom amylose-amylose og amylopektin, samtidig som det fanges vann. Dette er prinsippet ved bruk av stivelse som fortykningsmiddel i matlaging. Ved avkjøling i et kjøleskap kommer kjedene med amylose nærmere hverandre, danner krystaller og vann blir presset ut. Jfr. en pudding i kjøleskapet. Tørrt brød skyldes at amylose krystalliserer, men kan på nytt ta opp vann etter en tur i brødristeren. waxy-stivelse fra mais inneholder bare amylopektin, og denne mutanten mangler granulbundet stivelse syntase. Det er utviklet genmodifisert potet med høyere innhold av amylopektin enn vanlige poteter. Stivelse som bare inneholder amylopektin er attraktiv for industrien.

## Stivelse eller sukrose ?

Som man ser er det flere enzymer som er felles for dannelsen av glukose-1-fosfat i syntesen av stivelse og sukker, men det er forskjellige isoenzymer i kloroplast hvor stivelse lages og cytosyl hvor sukrose dannes. **Fruktose-2,6-bisfosfat** som er en viktig reguleringsforbindelse i karbohydratmetabolismen hemmer fruktose-1,6-bisfosfat fosfatase for cytosolenzymet, men ikke kloroplastenzymet. Fruktose-2,6-bisfosfat lages fra fruktose-6-fosfat katalysert av fruktose-6-fosfat-2-kinase, et enzym som aktiveres av uorganisk fosfat og fruktose-6-fosfat, og hemmes av triosefosfat. Nedbrytningen katalyseres av fruktose-2,6-bisfosfatase.

**Fosfat-triosefosfat translokatoren**, som virker som en antiport, er med å bestemme om det skal lages stivelse i kloroplasten eller sukrose i cytosol via tilgangen på uorganisk fosfat og triosefosfat. Hvis det er lite uorganisk fosfat i cytosol vil gi redusert eksport av triosefosfat og dette stimulerer syntese av stivelse i kloroplasten. Dette skjer ved at ADP-glukose pyrofosforylase i kloroplasten som deltar i syntesen av glukose-1-fosfat aktiveres av 3- fosfoglycерыsyre og hemmes av ortofosfat, dvs. økt syntese av stivelse.

Fruktose-2,6-bisfosfat er med på å regulere overgangen mellom glykoselyseintermediatene fruktose-1,6-bisfosfat og fruktose-6-fosfat ved å aktivere enzymene pyrofosfat fruktose-6-fosfat kinase og fruktose 1,6-bisfosfatase som deltar i syntesen av sukrose. Dessuten er det sterk regulering av syntesen av fruktose-2,6-bisfosfat. Fruktose-6-fosfat-2-kinase som deltar i syntese av fruktose-2,6-bisfosfat

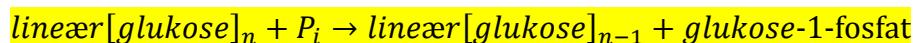


aktiveres av fosfat og fruktose-6-fosfat og hemmes av dihydroksyacetonfosfat og 3-fosfoglycеры. Fruktose-2,6-bisfosfat fosfatase hemmes av fosfat og fruktose-6-fosfat. Om natten omdannes midlertidig lagret stivelse til sukrose, ved at triosefosfat eksporteres ut fra kloroplasten i bytte mot uorganisk fosfat, og ADP-glukose pyrofosforylase aktiveres ikke lenger av fosfoglycerat. Hos dyrene er det hormoner (insulin) som gir et viktig signal til organismen om konsentrasjonen av sukker

## Nedbrytning av stivelse

Stivelse kan brytes ned fosforolyttisk eller hydrolyttisk.

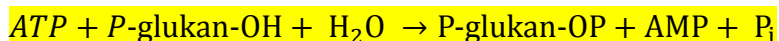
**Stivelse fosforylase** degraderer stivelse fosforolyttisk til glukose-1-fosfat:



Det finnes isoenzymer av stivelse fosforylase i kloroplaster og i cytosol. Glukose-1-fosfat omdannes til glukose-6-fosfat som går inn i pentosefosfatveien.

Forutsetning for nedbrytning av stivelse er fosforylering av amylopektin.

**Glukan-vann dikinase** katalyserer overføring av fosfat fra ATP til posisjon 6 og 3 i glykosylrester i amylopektin:

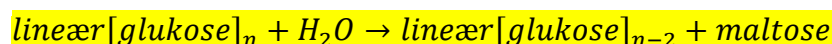


Avgreiningensenzym som bryter  $\alpha$ -1,6-bindinger i amylopektin er nødvendig for fullstendig nedbrytning av stivelseskor, kalt isoamylase-3 på overflaten av stivelseskor. Avgreining av løselig greinet glukane skjer via limit desktrinase.

Poteter er et yndet objekt for å isolere og måle aktiviteten til stivelse fosforylase. Poteter blir søte ved lav temperatur ved at stivelse omdannes til sukker.

Hydrolyttisk degraderes stivelse til fritt sukker via enzymet amylase.

Enzymet  **$\beta$ -amylase** katalyserer følgende reaksjon hvor maltose og noe maltotriose avspaltes fra enden av stivelsekjeden:



Enzymet  **$\alpha$ -amylase** danner maltose fra stivelse, men deler opp stivelse slik at det blir flere ender å arbeide med. Maltose blir ikke metabolisert i kloroplasten, men fraktes ut i cytosol.

Ved samvirke mellom  $\alpha$ -amylase og  $\beta$ -amylase brytes stivelse ned til maltose og kortere glukane/dekstriner. Maltose spaltes av  $\alpha$ -glukosidase til glukose.

Maltotriose ( $2[\text{glukose}]_3$ ) omdannes til maltopentose ( $[\text{glukose}]_5 + \text{glukose}$ ) katalysert av disproporsjonsenzym (D-enzym).

Stivelse i tomat og banan spaltes til sukker under modning av frukten.

## Regulering av sukrosesyntese

Reguleringsenzymene for syntese av sukrose er sukrosefosfat syntase og fruktose-1,6-bisfosfatase.

**Sukrosefosfat syntase** er et allosterisk enzym som inaktiveres i mørke ved fosforylering av serin via protein kinase og aktiveres i lys ved defosforylering katalysert av en fosfatase. Sukrosefosfat syntase aktiveres av glukose-6-fosfat (hemmer kinase) og hemmes av uorganisk fosfat som hemmer en fosfatase. Når større mengder sukrose transporteres vekk frigis det fosfat ved spalting av sukrosefosfat. Fosfat aktiverer utskillelse av triosefosfat fra kloroplastene via fosfattranslokatoren. Sukrosefosfat syntase aktiveres av glukose-6-fosfat som lages fra triosefosfat. Regulering av sukrosesyntesen skjer mellom fruktose 1,6 bisfosfat og fruktose 6-fosfat, katalysert forover av cytosol fruktose 1,6-bisfosfatase og i revers av fosfofruktokinase. Pyrofosfat-fruktose-6-fosfat-1-fosfotransferase katalyserer reaksjonen begge veier. Neste regulering skjer ved dannelsen av sukrose -6-fosfat fra UDP-glukose og fruktose 6-fosfat katalysert av sukrosefosfat fosfatase. Sukrosefosfat fosfatase aktiveres av glukose -6-fosfat og hemmes av uorganisk fosfat. Sukrosefosfat fosfatase finnes i en aktiv fosforylert form og en mindre aktiv mer fosforylert form katalysert av kinase/fosfatase.

**Fruktose-2,6-bisfosfat** som lages fra fruktose-6-fosfat er en viktig reguleringsmetabolitt som hemmer fruktose 1,6-bisfosfatase og aktiverer sukrosefosfat fosfatase. Nivået av fruktose 2,6-bisfosfat bestemmes av fruktose-6-fosfat-2-kinase og fruktose 2,6-bisfosfatase. Det bifunksjonelle enzymet fruktose-6-fosfat-2-kinase blir aktivert av fruktose-6-fosfat, pyruvat og uorganisk fosfat, men hemmes av 3-PGA, triosefosfat, PEP og  $PP_i$ . Fruktose-2,6-bisfosfatase hemmes av 6-fosfoglukonat og uorganisk fosfat.

Fruktose 2,6-bisfosfat hemmer fluksen mot sukrose og stimulerer fluksen mot stivelse.

Ved lavt ratio av triosefosfat/fosfat i cytosol lages fruktose-2,6-bisfosfat som hemmer hydrolyse av fruktose-1,6-bisfosfat som deretter gir redusert syntese av sukrose.

Ved høyt ratio av triosefosfat/fosfat i cytosol, viser at fotosyntesen er aktiv, dannelsen av fruktose-2,6-bisfosfat hemmes, noe som gir økt syntese av sukrose.

I motsetning til dyr har planter to metabolismeveier fra fruktose-6-fosfat til fruktose-1,6-bisfosfat:

- 1) Fosfofruktokinase som hemmes av  $P_i$ ,  $PP_i$ , ATP, ADP, AMP, men er ikke regulert av fruktose-2,6-bisfosfat.
- 2) Pyrofosfat-avhengig fosfofruktokinase aktiveres av fruktose-2,6-bisfosfat.

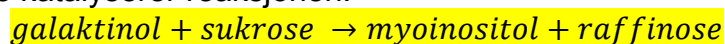
Sinkstyrke et mål på hvordan planteorganet trekker på fotoassimilater. Sinkstyrke er avhengig av sinkstørrelse (total biomasse) og sinkaktivitet (rate for opptak av fotosynteseprodukter). Det skjer en opphopning av fotosynteseprodukter i kilde hvis det er for liten aktivitet i sink. Karbohydrater, turgortrykk og hormoner kan virke som signal mellom kilde og forbrukssted. Sukrose kan hydrolyseres av sukrose syntase,

eller spaltes av invertase.

## Floemtransport av fotosynteseprodukter

**Sukrose** er den viktigste sukker i floemet (silvevet), men også raffinose (galaktose, fruktose og glukose), verbascose, stachyose og mannitol i selleri og sorbitol i eple forekommer hos noen planter. Jfr. polymerinnfangningsmodellen for symplastinnlasting av sukrose i silvevet.

Raffinose syntese katalyserer reaksjonen:



Verbascose er et pentasakkarid som bl.a. er blitt funnet i røttene til kongslis (*Verbascum*), *Cucurbita* og *Arabidopsis*. I floemet fraktes også aminosyrer og hos nitrogenfikserende planter ureider (allantoin og allantoinesyre). Sukker fraktes i ikke-reduserende form. Glukose og fruktose kan ikke fraktes i floemet for de har henholdsvis en eksponert aldehyd eller ketongruppe. Glukose og fruktose kan redusere  $\text{Cu}^{2+}$  til  $\text{Cu}^+$ , men det kan ikke sukrose. Sukrose kommer via apoplast og sukrose- $\text{H}^+$ -symport. Det skjer en proton-sukrose samtransport. Sukkertransporten inn i floemet via apoplast eller symplast (plasmodesmata). Det samme for aminosyrer. Det kan også skje symplasttransport av sukrose hos noen arter. Når sukrose fraktes ut av silrørene skjer det en hydrolysering i apoplasten katalysert av invertase. Styrken til sink kan være avhengig av aktiviteten av sur invertase som spalter sukrose til glukose og fruktose.

Det har vært stilt spørsmål om det er en annen mekanisme for floemtransport hos gymnospermer. Fruktaner, en lagringsform av fruktose, finnes bl.a. i cytosol hos gras.

## Forskjell på sukker fra sukkerør og sukkerbete

Det er mulig å finne ut om husholdningsukker kommer fra sukkerbete en C3-plante eller sukkerrør, som er en C4-plante. Enzymene i de to plantene som binder luftens karbondioksid registrerer forskjell på de to ikke-radioaktive isotopene  $^{12}\text{C}$  og  $^{13}\text{C}$  av karbon som finnes i forholdet 100 : 1.1 i karbondioksid. Disse isotopene reagerer kjemisk på samme måte, men på grunn av forskjellig størrelse reagerer de med forskjellig hastighet. De tas opp i forskjellig mengde hos C3 og C4-plantene og gir derved planten en isotopsignatur kalt delta C-13 ( $\delta^{13}\text{C}$ ) som gir sukker forskjellig delta  $^{13}\text{C}$ -forhold.

$$\delta^{13}\text{C} = \left( \frac{R_{\text{prøve}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right) \cdot 1000 \quad (\text{‰}) \quad \text{hvor } R = \frac{^{13}\text{CO}_2}{^{12}\text{CO}_2}$$

Forholdet mellom isotopene av karbon i luften har forandret seg igjennom tidene, blant annet har atombombep prøvene gitt en økning av den radioaktive isotopen  $^{14}\text{C}$ .

For å ha en standard hvordan forholdet mellom karbonisotopene var i tidligere tider bruker man kalkskallet fra en utdødd gruppe blekkspruter, Belemniter, fra Peedee-formasjonen i Syd-Carolina i U.S.A.. Ved å behandle kalken med syre fås karbondioksid og forholdet mellom isotopene kan måles. National Bureau of Standards har laget en ny standard i forhold til denne. Ved å se på karbonisotopene i gammelt plantemateriale og i skjeletter har vi kunnet finne ut om det vesentlig var C3 planter (ris, hvete, bønner) eller C4-planter (mais, hirse) mennesker og dyr spiste i tidligere tider. Delta  $^{13}\text{C}$ -forholdet i C4 planter er ca. -15 til -10, og i C3-planter er forholdet ca. -35 til -20.

## Sammenheng mellom reduksjon av karbon og nitrogen

Både assimilasjonen av karbon og nitrogen trenger ATP, NADPH og redusert ferredoksin. I tillegg trenger nitrogenassimilasjonen karbonskjeletter. Nitrat reduseres av nitrat reduktase i cytosol og nitritt reduktase lokalisert til plastider. Nitrat reduktase er fosforylert i mørke, noe som gir redusert aktivitet. Fosfoenolpyruvat karboksylase reguleres av fosforylering og blir aktivert i lys. Cytosol Fosfoenolpyruvat (PEP) karboksylase i cytosol har flere oppgaver. Det fikserer karbondioksid i C3 og C4-planter. Det er et nøkkelenzym i anapleurotisk vei for å opprettholde nivået av oksaleddisyre i TCA-syklus ved nitrogenassimilasjonen. Fosforylering gir økt aktivitet og gir minsket følsomhet for hemming av malat, som eller hemmer enzymet.

## Fotosyntese og etterspørsel

Fotosyntesen i bladene kan påvirkes av etterspørselen i andre deler av planten. Fjernes f.eks. potetene på en potetplante blir fotosyntesen mindre i skuddet. Aldrende blad kan få økt fotosyntese hvis behovet for fotosynteseprodukter øker. Transpirasjonen i frukt er liten og frukten får derfor mesteparten av vann, sukker og næringssalter via floemet.

## Kunstig fotosyntese

Kunstig fotosyntese er et forsøk på imitere naturen ved å bruke solenergi til å lage kjemisk energi, f.eks. fotokjemisk produksjon av hydrogen. Sollys fanges opp med "kunstig klorofyll" og problemet blir deretter å få koblet sammen to vannmolekyler og få fjernet 4 elektroner og 4 protoner. Hydrogen vil ved forbrenning ikke gi noen forurensing. Sollys gir energi per areal og tidsenhet i størrelsesorden  $0.2 \text{ kWh m}^{-2}$ . Energimengden varierer gjennom døgnet og året, og påvirkes av skyer og breddegrad. Idag bruker vi den termiske egenskapen til sollys til passiv oppvarming. I solcellepaneler med silisium blir sollys omdannet til elektrisitet. I fotosyntesen hos planter, alger og blågrønnbakterier brukes sollys til å produsere biomasse. Energien i

biomassen får vårt hjerte til å slå og kan gi varme når biomassen forbrennes. I fotosyntesen vil eksiterte elektroner i klorofyll hoppe over til nabomolekyler. Dette gir en ladningsseparasjon, atskillelse av positive og negative ladninger, som kan brukes å lage kjemisk energi og reduksjonskraft. Klorofyllets tapte elektroner erstattes med nye elektroner som kommer fra vann via manganmolekyler og som biprodukt lages det oksygen. Lyseksiteres porfyrinmolekyler som er fjernet fra planten faller de eksiterte elektronene straks tilbake og energien tapes som varme eller fluorescens. I planten derimot er det hundrevis av porfyriner som virker sammen i en matrise. En slik pigmentmatrise har det vært vanskelig å skape kunstig. Det har blitt gjort forsøk på elektrontransport med pigmenter som inneholder rutenium sammen med tyrosin og mangan. Det er også blitt gjort forsøk med solcellepaneler uten silisium, men med fargete pigmenter og bl.a. titandioksid ( $\text{TiO}_2$ ). Titandioksid er et pigment som brukes bl.a. i maling.

## Isolering av kloroplaster

Spinat (*Spinacea oleracea*) er den planten hvor det er lettest å isolere intakte kloroplaster. Andre planter som er mulig å prøve er ert (*Pisum sativum*), salat og meldestokk (*Chenopodium album*).

Blader avkjøles, klippes og knuses i et isotont medium i en blender i ca. 20 sekunder. Ekstraktet filtreres gjennom gaz og nettingduk. Etter sentrifugering f.eks. 1.000 xg i 10 minutter ristes pelleten forsiktig opp i det isotone mediet.

## Respirasjon

Respirasjon er mobilisering og kontrollert trinnvis **oksidasjon** av reduserte organiske stoffer ved biologisk temperatur. Energien frigis ved å oksidere organiske stoffer til karbondioksid og vann, og energien lagres som metabolsk energi. Den fri energien blir tilgjengelig og det kan lages ATP som brukes til å opprettholde livsaktivitetene og utviklingen av planten. Dessuten skaffer respirasjonen karbonskjeletter.

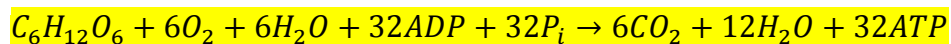
Respirasjonen skjer i **mitokondriene**. celle. Det er spesielt mange i metabolsk aktive celler som følgeceller og sekretoriske celler. Grønnalgen *Chlamydomonas* har få mitokondrier per celle. Den ytre og indre mitokondriemembranen er atskilt av et intermembranrom. Den indre membranen er foldet som cristae inn i matriks.

Respirasjon avhenger av alder, type vev, temperatur, oksygenkonsentrasjon, næringsstatus og vanntilgang. Respirasjonsraten hos planter er lavere enn dyr per gram friskvekt, men plantene har store vakuoler og respirasjonen hos planter og dyr blir omtrent likt når det kompenseres for dette. Omtrent 30-60% av fotosyntetisk bundet C per dag går til respirasjon. Hos tropiske planter opptil 70-80% per dag på grunn av høy nattetemperatur. Mørkerespirasjon skjer også i lys, men den er sterkt redusert, og i tillegg kommer fotorespirasjon. Fotorespirasjon utgjør ca. 20-40% av brutto fotosyntese. Det er høy respirasjon i knopper og bladspiss hos tofrøbladete, og

ved bladbasis hos de enfrøbladete. Klimakterisk frukt har høy respirasjon under fruktmodning, relatert til etylen. Ved 21%O<sub>2</sub> og 25°C er konsentrasjonen av oksygen i væskefase ca. 250 µM. Mangrove (*Avicennia* og *Rhizophora*) har pneumatoforer, og sumpplanter har aerenkym som bringer oksygen ned til røtter og rotstokker. Respirasjonen øker med økende temperatur i området 0-30°C, Q<sub>10</sub> er ca. 2, og over 30°C minsker respirasjonen og når et platå ved 40-50°C. I fruktlagere holdes lav temperatur med 2-3% O<sub>2</sub> og 3-5% CO<sub>2</sub> for å få økt holdbarhet av frukten med minimum respirasjon.

Energien som blir frigitt ved oksygenkrevende **aerob respirasjon** av 1 mol glukose (180 g) er 2880 kJ per mol glukose. Ved oksidasjon av 1 mol sukrose (342 g) frigis 5760 kJ per mol. Respirasjonen skjer i alle deler av planten: i ikke-grønt vev, røtter, blomster, frø, frukt, lagringsorganer og i alt grønt vev. Om natten er respirasjon fra karbohydratnedbrytning den viktigste kilden til fri energi og karbonskjeletter som trengs i biosyntese og transport.

Respirasjon av sukker (glukose) med 6 karbonatomer skjer skjematisk på følgende måte:



Glukose oksideres katabolsk til CO<sub>2</sub>. Oksygen er elektronakseptor og reduseres til vann. I tillegg til sukker kan alle reduserte forbindelser respireres f.eks. organiske syrer, fett, aminosyrer. Ikke all glukose oksideres til CO<sub>2</sub>. Respirasjonen lager også en rekke karbonforbindelser som anabolsk er intermediater i metabolismen og utgangspunkt for andre metabolismeveier. Respirasjonen har ikke bare en viktig funksjon med å skaffe cellen reduksjonskraft og ATP. Ketosyrer kan omdannes til aminosyrer ved transaminering. Acetyl-CoA er et viktig utgangspunkt for syntese av fettsyrer og forbindelser laget av isopren. Ribose-5-fosfat brukes i syntese av RNA og DNA, og erythrose-4-fosfat brukes i syntesen av aromatiske aminosyrer.

Det er 4 hovedprosesser i respirasjonen :

1) **Glykolyse** i cytosol og plastider hvor sukker (glukose) blir delvis oksidert til 2 molekyler pyruvat uten at det frigis CO<sub>2</sub>, men det lages noe ATP og NADH.

2) **Trikarboksylsyresyklus** (Krebs syklus , sitronsyresyklus) i matriks i mitokondriene omgitt av den indre mitokondriemembranen hvor pyruvat og organiske syrer dekarboksyleres til CO<sub>2</sub>, og det lages reduksjonskraft i form av NADH og FADH<sub>2</sub>.

3) **Elektrontransportkjede og oksidativ fosforylering** i mitokondrienes indre membraner hvor det skjer en nedoverbakettransport av elektroner fra NADH til oksygen. Oksygen er elektronakseptor og blir redusert til vann (H<sub>2</sub>O). Elektronoverføringen frigir energi som lagres i form av ATP. Oksidasjon av NADH ved hjelp av oksygen frigir 220 kJ mol<sup>-1</sup> som kan brukes til å lage ATP, tilsvarende ca. 60 ATP.

4) **Oksidativ pentosefosfatvei** i cytosol og plastider, hvor glukose-6-fosfat oksideres til ribulose-5-fosfat og to molekyler NADPH. Brukes til å lage NADPH i ikke-grønne plastider, amyloplaster, og i cytosol. Det lages også viktige karbonintermediater til den

øvrige metabolismen e.g. ribose-5-fosfat som brukes til å lage ribose og deoksyribose i nukleinsyrer, eller erythrose-4-fosfat som brukes til å lage fenolforbindelser.

Prinsippet for ATP-syntese i mitokondriene er det samme som for kloroplastene, en protongradient og kjemiosmotisk syntese ifølge Mitchell. NADH som lages i dekarboksyleringsreaksjonene er et universalreduksjonsmiddel i ikke-grønt vev og inngår derfor i en rekke biosyntesereaksjoner hvor det skjer reduksjon f.eks. syntese av fettsyrer.  $NAD(P)^+$  med redokspotensial 320 mV er en organisk kofaktor, koenzym, som deltar i redoksreaksjoner og lagrer elektroner fra trinnvis oksidasjon.



Respirasjonen reguleres ikke bare av omgivelsesfaktorer som temperatur, men også etter etterspørselen av reduserende kraft.

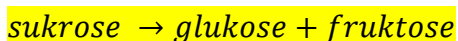
## Glykolyse - fra glukose til pyruvat

Glykosen (*glykos* - sukker, *lysis* - spalting) er ikke avhengig av oksygen, og kan skje i alle levende celler, prokaryoter og eukaryoter. I glykolysen omdannes sukker (heksosefosfat) til pyruvat og malat. Malat (eplesyre) omsettes i mitokondriene via malic enzyme og malat dehydrogenase. Det er mye malat i planter. Malat lages uten ATP-syntese, mens overgangen fra fosfoenolpyruvat til pyruvat lager 1 ATP. Når malat lages blir det ikke dannet noe NADH siden overgangen fra oksaledikksyre til malat forbruker NADH.

Glykolysen består av en energiinvesteringsfase som bruker ATP og en energiavkastningsfase som lager ATP og NADH

Enzymene i glykolysen finnes i cytosol i cellen. Sukker kommer fra triosefosfater i fotosyntesen på 3 hovedmåter:

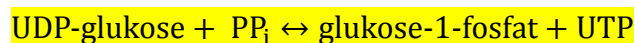
- 1) fruktose-6-fosfat laget direkte i fotosyntesen fra triosefosfat.
- 2) Fra transportert sukrose som brytes til glukose og fruktose katalysert av **invertase**:



eller fra fruktose og UDP-glukose katalysert av **sukrose syntase**:



UDP-glukose omdannes videre til glukose-1-fosfat katalysert av **UDP-glukose pyrofosforylase**:

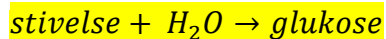


Glukose-1-fosfat gir glukose-6-fosfat katalysert av **fosfoglukomutase**:

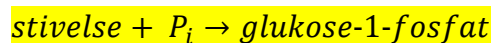




3) Fra stivelse i plastider nedbrutt av **amylase**:



eller **stivelse fosforylase**:

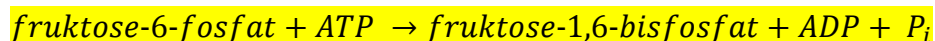


Deretter skjer det videre enzymatisk omdanning til triosefosfater. Starten på glykolysen er at glukose og fruktose kan omdannes til henholdsvis glukose-6-fosfat og fruktose-6-fosfat katalysert av henholdsvis glukose kinase og fruktose kinase. Det finnes isoenzymer av **heksokinase** og noen kan bruke glukose, noen fruktose og noen kan bruke begge substratene. Fosforyleringen øker den kjemiske reaktiviteten og fanger glukose siden membranen er impermeabel for fosfatforbindelsene.

**Heksosefosfat isomerase** katalyserer isomeriseringen mellom disse heksosene:

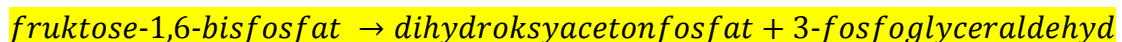


Fruktose-6-fosfat fosforyleres av **fosfofruktokinase** til fruktose-1,6-bisfosfat.

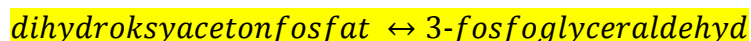


Her forbrukes ATP og dette er et viktig reguleringsenzym:

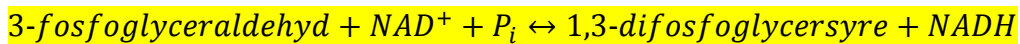
Det finnes både ATP-avhengig og pyrofosfat ( $\text{PP}_i$ )-avhengig fosfofruktokinase.  $\text{PP}_i$ -avhengig fosfofruktokinase aktiveres av fruktose-2,6-bisfosfat. ATP-avhengig fosfofruktokinase er irreversibel, hemmes av fosfoenolpyruvat, og aktiveres av fosfat. Fruktose-1,6-bisfosfat vil katalysert av en **aldolase** gi dihydroksyacetofosfat og 3-fosfoglyceraldehyd.



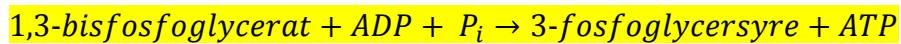
**Triosefosfat isomerase** katalyserer isomeriseringen fra dihydroksyacetofosfat til 3-fosfoglyceraldehyd. Reaksjonen er reversibel og det finnes isoenzymer i plastider og cytosol:



Glykolysen har nå skaffet to molekyler 3-fosfoglyceraldehyd fra en heksose og de neste trinnene får dobbel dose med substrater. Nå kan energifrigivelsen starte og først skaffes reduksjonskraft i form av NADH katalysert av **3-fosfoglyceraldehyd dehydrogenase**. NADH kan brukes som elektrondonor i redoksreaksjoner.



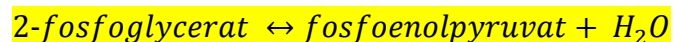
Plantene inneholder tre forskjellige 3-fosfoglyceraldehyd dehydrogenase, og NADPH avhengig enzym finnes i plastider og cytosol og har til oppgave å lage 3-fosfoglyceraldehyd. Videre lages det for første gang i glyklysen ATP ved **substratfosforylering** katalysert av **fosfoglycerat kinase**:



3-fosfoglycercyrcsyre er ikke et sukker siden ketogruppen (-C=O) er oksidert til en syregruppe (-COOH). Fosfoglycerat kinase finnes både i plastider og cytosol. I en muteringsreaksjon flyttes fosfat fra karbonatom 3 til 2 og 3-fosfoglycerat omdannes til 2-fosfoglycerat katalysert av **fosfoglycerat mutase**:



Vann fjernes, det lages en dobbeltbinding og den energirike forbindelsen fosfoenolpyruvat lages katalysert av **enolase**, en enzymaktivitet som kan øke under stress:



Nå kan det nok en gang lages ATP katalysert av **pyruvat kinase**, enzymet finnes også i plastider:



Fosfatestere som fosfoenolpyruvat, ATP, pyrofosfat (PP<sub>i</sub>) og 1,3-bisfosfatglycerat og glukose-6-fosfat er høyenergimolekyler hvor energi kan frigis ved hydrolyse. Dette kan brukes til å utføre kjemisk arbeid i energikrevende reaksjoner. Fosfoenolpyruvat har også mulighet til å inngå i en karboksylingsreaksjon katalysert av PEP karboksylase, men denne inngår ikke i glykolyse.

ATP investeringen i glykolyse gir 100 % utbytte. Det skytes inn 2 ATP og en heksose og det hentes ut 4 ATP, 2 NADH, 2 pyruvat og 2 H<sub>2</sub>O. Imidlertid frigir glykolyse mindre enn 1/4 av energien som finnes i glukose.

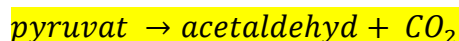
Viktige reguleringspunkter i glykolyse er enzymene fosfofruktokinase som hemmes av fosfoenolpyruvat og pyruvat kinase som hemmes av intermediater i trikarboksylsyresyklus. Det finnes også en mulighet for at fosfoenolpyruvat kan karboksyleres og via oksaleddisyre omdannes til malat som kan fraktes til kloroplastene og brukes i syntesen av fettsyrer. Malat enzym omdanner malat til pyruvat som kan omdannes til acetyl-CoA. En alternativ C-kilde er **heksosefosfater**. Triosefosfater fra kloroplastene bygger opp heksosefosfater i cytosol. Heksosefosfater kommer fra glukoneogenese eller via fosforylering av frie heksoser dannet fra nedbrytning av stivelse om natten. Heksoser brukes i glykolyse, pentosefosfatvei, og til å lage sukrose. Det skjer heksosefosfatisomerisering. Fruktose-6-fosfat ↔ glukose-6-fosfat katalysert av heksosefosfat isomerase.

Glukose-6-fosfat  $\leftrightarrow$  glukose-1-fosfat katalysert av fosfoglukomutase.

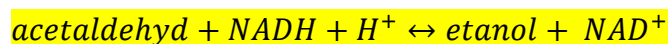
Regulering av glykolysen skjer nedenfra og opp via endeproduktene ved trinnet fosforylering av fruktose-6-fosfat  $\rightarrow$  fruktose-1,6-bisfosfat katalysert av ATP-avhengig fosfofruktokinase som hemmes av fosfoenolpyruvat og hemmingen reduseres av fritt uorganisk fosfat. Det andre reguleringstrinnet omsetningen av fosfoenolpyruvat  $\rightarrow$  fosfoenolpyruvat katalysert av pyruvat kinase som hemmes av malat, citrat, 2-oksoglutarat og glutamat. Reguleringsmetabolitten fruktose-2,6-bisfosfat hemmer fruktose-1,6-bisfosfatase i cytosol og aktiverer  $PP_i$ -avhengig fosfofruktokinase.

## Fermentering

Uten oksygen (anoksis - oksygenfritt, hypoksis - lav oksygenkonsentrasjon) virker ikke sitronsyresyklus og oksidativ fosforylering. Glykolysen er avhengig av  $NAD^+$  og ved fermentering regenereres  $NAD^+$ . Pyruvat representerer et metabolsk greiningspunkt. Hvis det er dårlig tilgang på oksygen, som røtter i oversvømt jord, kan pyruvat ved **fermentering** omdannes til acetaldehyd katalysert av **pyruvat dekarboksylase**:

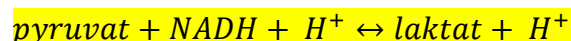


Siden ikke oksygen er tilstede er det ved etanolgjæring istedet et organisk molekyl, acetaldehyd, som mottar elektroner katalysert av **alkohol dehydrogenase**:



Dessuten vil reaksjonen fremskaffe  $NAD^+$  som på nytt kan brukes til elektronakseptor i reaksjonen katalysert av glycerinaldehyd-3-fosfat dehydrogenase. Dette hindrer at fermenteringen stopper opp pga. av mangel på  $NAD^+$ .

Pyruvat kan også omdannes til laktat (melkesyre) katalysert av **laktat dehydrogenase** selv om dette ikke er så vanlig i planter. Melkesyregjæring gir forsuring (acidose). Her blir det pyruvat selv som fungerer som elektronakseptor:



Det er bare en del av energien i suktermolekylet som blir frigitt ved fermentering. På grunn av den lave energiutnyttelsen må hastigheten på glykolysen øke under anaerobe forhold, kalt **Pasteureffekt**, for å kunne opprettholde ATP-produksjonen.

Oksidasjon av sukrose inneholder potensielt  $-5760 \text{ kJ mol}^{-1}$ , og syntese av ATP krever  $32-50 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Det dannes ca. 4 ATP for hvert sukrose molekyl omdannet til etanol eller laktat, som gir ca. 4% energiutnyttelse ved fermentering av sukrose.

Klimakterisk frukt har en sterk økning i respirasjonen under modningen av frukten, samtidig med at utskillelsen av plantehormonet etylen øker. Når konsentrasjonen av oksygen i atmosfæren synker under 5 % fra de vanlige 21 % reduseres respirasjonen

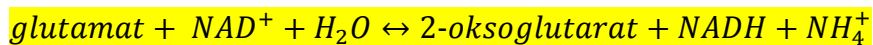
pga. begrensningen av diffusjon av oksygen i vannfasen i cellene. Selv om tilgangen på oksygen reduserer aerob respirasjon minsker ikke omsetningen av karbohydrater. Louis Pasteur fant at gjærcellerforbrukte mer glukose ved anaerob respirasjon enn ved aerob respirasjon (Pasteur-effekt). Noen planter tåler godt å vokse i oversvømt jord. Disse kan enten utvikle luftvev (aerenkym), ha luftrøtter (pneumatoforer). Frukt kan lagres ved lav temperatur ved 3% oksygen og 5 % CO<sub>2</sub>

## Trikarboksylsyresyklus i mitokondrier

Trikarboksylsyresyklus (etter trikarboksylsyrene citrat(sitronsyre) og isocitrat), citronsyresyklus eller Krebs syklus ( etter biokjemikeren Hans A. Krebs som oppdaget den i 1937) er synonyme navn. Denne syklusen hvor pyruvat fra glykolysen oksideres skjer i matriks i mitokondriene. Mitokondriemembranen inneholder fosfolipider (ca. 80% fosfatidylkolin og fosfatidyletanolamin, og ca. 15% difosfatidylglycerol (cardiolipin) I glykolysen frigis ca 1/4-del av energien i glukose og resten frigis i trikarboksylsyresyklus. Pyruvat fra glykolysen fraktes inn i mitokondriene via en pyruvat transportør og omsettes først til thioesteren acetyl-CoA i et multienzymkompleks **pyruvat dehydrogenase**. Pyruvat blir her oksidativt dekarboksyliert og det dannes NADH. Koblingen mellom glykolysen og trikarboksylsyresyklus skjer via enzymene pyruvat dehydrogenase, dihydrolipoyl transferase og dihydrolipoyl dehydrogenase. Mitokondriene kan også ta opp oksaleddiksyre og malat. Syklusen starter med at acetyl-CoA overfører 2 karbonatomer til oksaledikksyre som selv har 4 karbonatomer, og det dannes citrat som inneholder 6 karbonatomer katalysert av **citrat syntase**. Fjerning av vann fra citrat gir isomeren isocitrat katalysert av **aconitase**. Deretter følger to trinn med dekarboksylering. Først omdannes isocitrat til 2-oksoglutarat ( $\alpha$ -ketoglutarat) og samtidig frigis CO<sub>2</sub> og NADH, katalysert av **isocitrat dehydrogenase**, en oksidativ dekarboksylering. 2-oksoglutarat oksideres til succinyl-CoA. Igjen frigis CO<sub>2</sub>, og NADH og CoA inngår i reaksjonen ved en mekanisme som ligner omdanningen fra pyruvat til acetyl-CoA (pyruvat dehydrogenase), katalysert av **2-ketoglutarat dehydrogenase**. Succinyl-CoA omdannes til succinat (ravsyre) katalysert av **succinyl-CoA syntetase** og energien i thioesterbindingen brukes til å lage ATP ved substratfosforylering. Dette trinnet er forskjellig fra dyr hvor det dannes GTP istedet for ATP. Succinat gir fumarat og FADH<sub>2</sub> (flavin adenin dinukleotid) katalysert av **succinat dehydrogenase** bundet til membranen. Enzymet **fumarase** omdanner fumarat til malat ved tilføring av vann. Både succinat dehydrogenase og fumarase brukes som markørenzymer for mitokondriene. **Malat dehydrogenase** omdanner reversibelt malat til oksaledikksyre og NADH, og ringen er sluttet ved at oksaleddiksyre på nytt kan binde et molekyl med acetyl-CoA. Ved oksidasjonen av pyruvat frigis 3 molekyler CO<sub>2</sub>, og det dannes 4 NADH og 1 FAD. En annen spesiell egenskap ved plantemitokondriene er innholdet av malat enzym slik at mitokondriene kan ta opp malat fraktet av en dikarboksyilat transportør, og malat dekarboksyleres deretter til pyruvat, CO<sub>2</sub> og NADH katalysert av malat enzym. Dette gir plantene en mulighet til en alternativ omsetningsvei for fosfoenolpyruvat via fosfoenolpyruvat karboksylase og malat dehydrogenase.

I tillegg til NADH kan også NADPH oksideres i elektrontransportkjeden i mitokondriene. Det finnes også NADPH avhengig isocitrat dehydrogenase og NADP<sup>+</sup> malat dehydrogenase. Reduksjonen av dihydrofolat til tetrahydrofolat i mitokondriene bruker NADPH.

Tilgangen på ADP og P<sub>i</sub> er en viktig reguleringsfaktor i trikarboksylsyresyklus. I respirasjonen behøves kofaktorene thiamin pyrofosfat, lipoinisyre, FAD, CoASH og NAD<sup>+</sup>. Glycin som kommer fra fotorespirasjonen og andre aminosyrer kan oksideres i mitokondriene bl.a. glutamat katalysert av **glutamat dehydrogenase**



Aspartat aminotransferase finnes også i mitokondriene og deltar i nedbrytningen av protein. Selv om glyoxysomene er viktigst kan mitokondriene til en viss grad oksidere fettsyrer. Sitronsyresyklus gir 2-oksoglutarat til assimilasjon av ammonium. Den mengden 2-oksoglutarat som blir tatt ut av syklusen må erstattes (anaplerotisk reaksjon) og derfor har mitokondriene mye NAD<sup>+</sup> malat enzym. Det finnes også isocitrat dehydrogenase i cytosol slik at eksportert citrat også kan gi 2-oksoglutarat.

## Regulering av respirasjon

Hastigheten på respirasjon er kontrollert nedenfra og oppover via ADP. ADP regulerer elektrontransport og ATP syntese, som igjen regulerer sitronsyresyklus og glykolyse. 2-oksoglutarat dehydrogenase i sitronsyresyklus hemmes av NADH. Sitronsyre og glutamat hemmer pyruvat kinase i cytosol, noe som gir økt konsentrasjon av fosfoenolpyruvat som derved hemmer glykolyse ved å redusere overgangen mellom fruktose-6-fosfat og fruktose-1,6-bisfosfat.

Pyruvat dehydrogenase blir regulert via fosforylering og defosforylering. Pyruvat dehydrogenase kan bli fosforylert av en protein kinase, noe som hemmer enzymet. Kinasen hemmes av pyruvat og ADP, noe som gir aktivering av pyruvat dehydrogenase (PDH). Kinasen aktiveres av ammonium, noe som gir hemming av PDH. Mg<sup>2+</sup> aktiverer fosfatase noe som gir aktiv PDH.

## Elektrontransportkjeden fra NADH til O<sub>2</sub> i mitokondrier

Reduksjonskraften i NADH og FADH<sub>2</sub> kan brukes direkte eller omdannes til den kjemiske energibæreren ATP for å utføre kjemiske arbeid i cellen. Dette siste skjer i den indre mitokondriemembranen hvor elektroner fra NADH blir overført til oksygen i elektrontransportkjeden som omdannes til vann. Energien til elektroner bevares trinnvis som en protongradient over indre mitokondriemembran.

Elektrontransportkjeden er koblet til protontransport ut i mellomrommet mellom de to mitokondriemembranene.

NADH må også oksideres videre for at det ikke skal bli mangel på NAD<sup>+</sup> i mitokondriene. Elektrontransportkjeden består av en seriekobling av 4 proteinkomplekser (I-IV).

I **kompleks I**, som inneholder FMN (flavomononukleotid) og jernsvovelproteiner, overføres elektroner fra  $\text{NADH} + \text{H}^+$  til ubikinon katalysert av det store enzymkomplekset **NADH dehydrogenase**. Ubikinon er en fettløselig elektron- og protonbærer som kan diffundere i membranen.  $4\text{H}^+$  pumpes til intermembranrommet i mitokondriene for hvert elektronpar som passerer. Denne reaksjonen kan hemmes av plantegiften **rotenon**. Rotenoider blir isolert fra røtter til *Derris*, *Amorpha* og *Lonchocarpus* i erteblomstfamilien. Rotenon brukes til å drepe fisk (piscicid) og insekter, og er blitt brukt til å bekjempe lakseparasitten *Gyrodactylus*.

Succinat blir oksidert i **kompleks II** av membranbundet **succinat dehydrogenase** fra trikarboksylsyklus. Elektroner fra succinat overføres via  $\text{FADH}_2$  og jernsvovelproteiner til ubikinon.

Elektroner fra kompleks I, II og NADPH blir overført til **ubikinon**. Det blir ikke pumpet  $\text{H}^+$  fra kompleks II.

I **kompleks III** som virker som en **ubikinol-cytokrom c oksidoreduktase** overføres elektroner til cytokrom  $\text{bc}_1$  og det dannes  $4\text{H}^+$  per elektron. Kompleks III oksiderer redusert ubikinon og overfører elektroner via jern-svovelsentre, cytokrom  $\text{b}_{565}$ , cytokrom  $\text{b}_{560}$  og membranbundet cytokrom  $\text{c}_1$  til cytokrom c. Proteinet er ikke integrert i membranen og cytokrom c overfører ett elektron ad gangen til kompleks IV. Cytokrom  $\text{bc}_1$  har to bindingssteder for kinoner. Ett som oksiderer ubikinol og ett som reduserer ubikinon. Kompleks III hemmes av myxothiazol og antimycin A. Ett par elektroner følges av 4 protoner i Q-syklus. I **Q-syklus** blir ubikinon redusert til ubikinol på matrikssiden. Cytokrom c er løst bundet og frakter elektroner mellom kompleks III og IV.

**Kompleks IV** er den terminale **cytokrom c oksidase** hvor ett oksygenmolekyl reduseres til 2 vannmolekyler ved å motta 4 elektroner. Kompleks IV inneholder to kobbersentre ( $\text{Cu}_A$  og  $\text{Cu}_B$ ), cytokrom a, og cytokrom  $\text{a}_3$ . Cytokrom c oksidase hemmes av cyanid ( $\text{CN}^-$ ), azid og karbonmonoksid ( $\text{CO}$ ), og derfor er disse stoffene meget giftige.

Elektroner fraktes fra NADH via kompleks I til IV til oksygen, koblet til syntese av ATP via **ATP syntase (kompleks V)**. Det er sete for syntese av ATP i kompleks I, III og IV. Ved kjemosmotisk syntese av ATP trengs  $4\text{H}^+$  for å lage 1 ATP. Antall  $\text{H}^+$  (i parentes) som blir fraktet per 2 elektroner er: kompleks I (4), kompleks III (4), kompleks IV (2).

NADH fra utsiden av mitokondriene gir elektroner bare gjennom kompleks III og IV, dvs.  $6\text{H}^+$  gir 1.5 ATP.

Ubikinon og cytokrom  $\text{bc}_1$  i respirasjonkjeden ligner strukturelt på plastokinon og cytokrom  $\text{b}_6\text{f}$ -kompleks i fotosyntesens elektrontransport. Planter har respirasjonskomplekser med unike subenheter som også deltar i import av proteiner. Til forskjell fra dyr har planter en NAD(P)H dehydrogenase festet til mitokondriemembranen mot intermembranrommet, og som kan levere elektroner til ubikinon. NADPH kan derved oksideres på matrikssiden ut mot cytosol av en

dehydrogenase som ikke hemmes av rotenon. Elektroner blir fraktet til ubikinon, men ikke  $H^+$  over membranen.

ADP:O forholdet angir forholdet mellom antall ATP som lages når 2 elektroner overføres til et oksygenatom. Ut fra dette forholdet antar man at det lages ATP ved **oksidativ fosforylering** i kompleks I, III og IV. Den indre mitokondriemembranen er ikke permeabel for  $H^+$  slik at det kan bygge seg opp en protonелеktrokjemisk gradient over membranen.  $H^+$  går tilbake til matriks via enzymkomplekset  $F_0F_1$  ATP syntase. Den hydrofobe  $F_0$  delen av proteinet er en integrert del av membranen og lager en membranproteinkanal. Når protoner passerer kanalen skjer katalyttisk dannelse av ATP fra ADP og  $P_i$  i den hydrofile roterende delen  $F_1$ . Det går ca.  $3H^+$  gjennom membranen for hver ATP.  $F_1$  består av 5 forskjellige proteinsubenheter.  $\gamma$ -subenheten sitter som et roterende skaft omgitt av  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  og  $\epsilon$ -subenheter med 3 katalytiske seter i åpen, løs og tett proteinkonformasjon. Substratene ADP og  $P_i$  kan binde seg i det åpne sete og ATP frigis fra det tette konformasjonssete.

Transportører bytter substrater og produkter over mitokondriemembranen, og  $1H^+$  for bytte over membranen gir ca.  $4H^+$  per 1ATP. Det er transportører for ADP og ATP,  $ATP^{4-}$  fraktes ut og  $ADP^{3-}$  fraktes inn i mitokondriene drevet av pumping av  $H^+$ . Uorganisk fosfat ( $P_i$ ) fraktes inn i mitokondriene ved fosfattransporter og bruker  $H^+$  gradienten. Dikarboksytranslokator frakter malat og succinat i bytte med  $P_i^{2-}$ . Citrat byttes med malat, og når pyruvat går inn går  $OH^-$  ut.

**Avkoblere** gjør membranen permeabel for  $H^+$  og hemmer ATP syntesen, men elektrontransporten kan bli stimulert. Flere avkoblere er stoffer fra sekundærmetabolismen hos sopp og bakterier og noen er syntetiske som f.eks. 2,4-dinitrofenol og FCCP (p-trifluorometoksykarbonylcyanid fenylhydrazon). Avkoblere frikobler elektrontransporten fra ATP-syntesen, gir mer elektrontransport og hemmer syntesen av ATP. Avkoblere hindrer derved oppbygging av pH-gradient og ATP-syntese. 2,4-dinitrofenol har blitt brukt som et livsfarlig slankemiddel.

Stressindusert **avkoblerprotein** i planter kan hindre overreduksjon av elektrontransportkjeden. Avkoblerprotein hos pattedyr øker  $H^+$  permeabiliteten i den indre mitokondriemembranen og virker som en avkobler, noe som gir mer varme og mindre ATP, en reaksjon som gir varmeproduksjon i brunt fettvev.

I mitokondrier er både pH og ladningsgradienten viktige for ATP syntese, mens i kloroplastene er pH-gradienten viktigst.

$$PMF = \Delta\Psi - \frac{2.3 \cdot RT}{F} \cdot \Delta pH$$

$\Delta pH$  er maksimalt 0.5 og  $\Delta\Psi = -150$  til  $-200$  mV.

Ved  $25^\circ C$  blir den protondrivende kraften  $\Delta p$ :

$$\Delta p = \Delta E - 59 \cdot \Delta pH$$

hvor  $\Delta E$  er et mål på den assymmetriske fordelinger av ladninger på innsiden og



utsiden av membranen.

Tilgangen på ADP og  $P_i$  er en viktig reguleringsfaktor for hastigheten på respirasjonen.

ATP syntase kan virke motsatt vei som en **protonpumpe** drevet av hydrolyse av ATP.

Oksidasjon av NADH fra matriks i mitokondriene kan enten skje gjennom kompleks I som hemmes av rotenon og piericidin, eller når kompleks I er overbelastet er det en rotenon-resistent dehydrogenase f.eks. ved fotorespirasjon.

Energiutbytte ved aerob respirasjon er 60ATP per sukrosemolekyl: 8ATP fra substratnivåfosforylering, 4 ATP fra glykolyse og 4ATP fra sitronsyresyklus, samt 4NADH i cytosol ( $4 \cdot 1.5 = 6\text{ATP}$ ) og 16NADH ( $16 \cdot 2.5 = 40\text{ATP}$ ) + 4FADH<sub>2</sub> (via succinat,  $4 \cdot 1.5 = 6\text{ATP}$ ) i mitokondriematriks.  $50\text{kJ mol}^{-1}$  for dannelse av ATP in vivo gir for 60 ATP  $3000\text{ kJ mol}^{-1}$ , og med et potensielt energiinnhold i sukrose på  $5760\text{ kJ mol}^{-1}$  betyr dette at ca. 52% av energien i sukrose blir bevart ved aerob respirasjon, sammenlignet med 4% utbytte ved fermentering. Dette viser den betydelige energimengden som blir gjort tilgjengelig ved å benytte oksygen som elektron- og protonakseptor i respirasjonen, i stedet for andre elektronakseptorer som brukes av anaerobe organismer e.g. nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), jern(III) ( $\text{Fe}^{3+}$ ), og karbondioksid ( $\text{CO}_2$ ).

## Cyanidresistent respirasjon (alternativ oksidase)

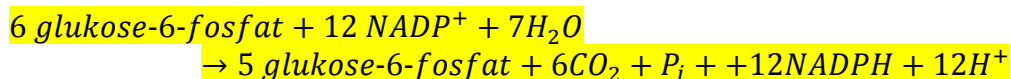
Cyanid hemmer enzymet cytokrom oksidase, men plantene skiller seg også fra dyrene ved å ha en **alternativ cyanidresistent respirasjon** som ikke er følsom for cyanid, karbonmonoksid og azid, og er derved forskjellig fra cytokrom c oksidase. I denne respirasjonen blir store mengder oksygen forbrukt og NADH-oksidasjon skjer via peroksidaser. Elektroner fra NADH går derved utenom respirasjonskjeden og fraktes direkte fra et flavoprotein til oksygen. Det siste trinnet katalyseres av en **alternativ oksidase** sterkt bundet til innermembranen. Den alternative oksidase reguleres via redoksnivået til poolen av ubikinon og pyruvat. Elektronene blir overført fra ubikinon til den alternative oksidasen. Derved hopper man over kompleks III og IV og får en alternativ vei for reduksjon av oksygen, og energien blir frigjort som varme i stedet for i form av ATP. Reaksjonen hemmes av SHAM (salicylhydroksamsyre). Bryteren som skrur på varmen (termogenese) er salicylsyre som virker som et termogen.

Cyanidresistent respirasjon har stor betydning ved termogenese i *Arum*-liljer hvor en kolbeformet blomsterstand omgitt av et hylsterblad produserer varme som fordamper illeluktene aminer, indoler og terpener. Åtsellukten tiltrekker seg insekter som pollinerer planten. Denne typen respirasjon synes også å spille en rolle ved forskjellige typer stress, lav temperatur, tørke og ved modning av frukt, og gjelder sannsynligvis for flere typer blomster inklusiv rakler tidlig om våren, kjent bl.a. fra lotusblomsten

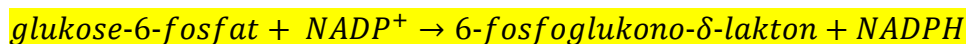
(*Nelumbo nucifera*). Ved stress vil elektroner bli drenert vekk og kan hindre dannelsen av oksygenradikaler.

## Oksidativ pentosefosfatvei

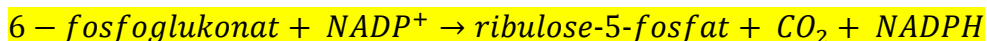
Glykolysen omsetter 80-95% av alt sukker, og de resterende 5-20% omsettes i pentosefosfat. Oksidativ pentosefosfatvei (heksosemonofosfat shunt) i cytosol og plastider oksiderer glukose-6-fosfat og lager NADPH som brukes i biosyntetiske redoksreaksjon, samt viktige karbonintermediater for andre metabolismeveier. NADPH kan også bli brukt til å lage ATP. Mitokondriene kan oksidere NADPH i cytosol via NADPH dehydrogenase på yttersiden av den indre mitokondriemembranen. Det er to NAD(P)H dehydrogenase som er  $Ca^{2+}$  avhengige, og elektronene blir fraktet til ubikinon.



I det første trinnet i pentosefosfatvei dannes NADPH og glukose-6-fosfat oksideres til glukonat-6-fosfat katalysert av **glukose-6-fosfat dehydrogenase**:



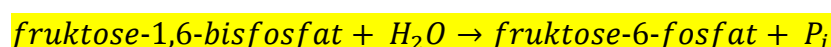
I neste trinn skjer den andre oksidasjonen og på nytt lages NADPH, samtidig som det skilles ut  $\text{CO}_2$  og produktet blir ribulose-5-fosfat katalysert av **glukonat-6-fosfat dehydrogenase**.



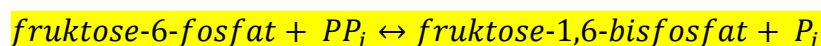
I den gjenværende delen av pentosefosfatveien blir ribulose-5-fosfat omformet til fruktose-6-fosfat og glyceralddehyd-3-fosfat. Ribulose-5-fosfat omdannes til ribose-5-fosfat katalysert av pentosefosfat isomerase og til xylulose-5-fosfat katalysert av pentosefosfat epimerase. I en transketolase reaksjon gir ribose-5-fosfat og xylulose-5-fosfat glyceralddehyd-3-fosfat og sedoheptulose-7-fosfat og en transaldolase virker på disse produktene og lager fruktose-6-fosfat og erythrose-4-fosfat. En transketolase omformer xylulose-5-fosfat og erythrose-4-fosfat til glyceralddehyd-3-fosfat og fruktose-6-fosfat. Det kan være vanskelig å studere enzymene i oksidativ pentosefosfatvei siden flere av enzymene også deltar i reduktiv pentosefosfatvei i kloroplastene. I lys er oksidativ pentosefosfat i kloroplastene lite aktiv. Respirasjonen skjer også samtidig med at fotosyntesen foregår. Høy metabolsk aktivitet i celler innebærer høy aktivitet på respirasjonen og mange mitokondrier per celle. Ribose-5-fosfat brukes i syntesen av henholdsvis ribose og deoksyribose til henholdsvis nukleinsyrene RNA og DNA. Erythrose-4-fosfat brukes i syntesen av aromatiske aminosyrer, lignin, flavonoider, fytoaleksiner og polyfenoler. Selv om pentosefosfatveien med irreversibel oksidasjon gir NADPH er det flere reversible enzymatiske trinn i omsetningsveien.

## Glukoneogenese - baklengs glykolyse

Plantene har mulighet til å bruke glykolysen baklengs kalt **glukoneogenese**. Dette skjer ved spiring av fettfrø hvor fett omdannes til sukker. Fettsyrene brytes ned til acetyl-CoA i  $\beta$ -oksidasjon i glykosysomer. Det hoppes over to dekarboksyleringstrinn i sitronsyresyklus via **glyoksylytsyklus**. Noen trinn i glykolysen er irreversible slik som ATP-avhengig fosfofruktokinase. Istedet brukes **fruktose-1,6-bisfosfatase** som omdanner fruktose-1,6-bisfosfat til fruktose-6-fosfat og enzymet hemmes av fruktose-2,6-bisfosfat.



Det finnes en mulighet til katalysert av **pyrofosfat-avhengig fosfofruktokinase** som katalyserer reaksjonen:



Dette er en reversibel enzymreaksjon og kan virke både under glykolysen og glukoneogenesen.

**Respirasjonskvotienten** RQ forteller noe om hvilket materiale som respireres:

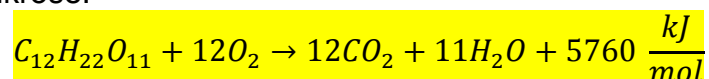
$$RQ = \frac{\text{mol } CO_2 \text{ utskilt}}{\text{mol } O_2 \text{ tatt opp}}$$

RQ=1 hvis det er sukker som er substrat for respirasjonen. Hvis RQ>1 omsettes organiske syrer som er mer oksidert enn sukker. RQ<1 hvis fett og protein respireres, stoffer som er mer redusert enn sukker.

Organiske syrer fra reduksjonen av nitrat i blad kan fraktes til rota. Nitratreduksjon i rota lager 2 CO<sub>2</sub> for hvert nitratmolekyl som reduseres til ammonium.

Aerob respirasjon lager opptil 36 molekyler ATP for hvert molekyl med hexose som blir oksidert.

Respirasjon av sukrose:



hvor 1 mol sukrose veier 342 gram

## Fett (lipider)

Dyr lagrer karbon i form av fett som er mer redusert karbon enn det som finnes i karbohydrater, og kan derved frigi større mengder energi ved oksidasjon sammenlignet med karbohydrater. Fullstendig oksidasjon av 1 gram fett eller olje gir ca. 40 kJ, mens oksidasjon av 1 gram stivelse gir 15.9 kJ. Bortsett fra i fettfrø lagrer planter vesentlig karbohydrater. Fett (lipider gr. *lipos* - fett) med høyt energiinnhold inngår i membraner og som opplagsnæring i frø. Soyabønne, solsikke, peanøtt, raps bomull, og lin har frø som lagrer oljer. Avokado og oliven er eksempler på frukt som lagrer fett. Andre navn på fett er **triglycerider** eller triacylglycerol. Acyl henpeiler på fettsyrene, og triacylglycerol vil si at fettsyrene er bundet i esterbinding til de tre hydroksylgruppene i glycerol. Fett kalles **olje** når det er flytende ved romtemperatur og dette skyldes høyt innhold av umettede fettsyrer i fett. Umettede fettsyrer inneholder umettede karbon=karbon dobbeltbindinger (C=C). Fett har høyere andel mettede fettsyrer og er i fast form ved romtemperatur. Lipider er et samleavn på fett og oljer. Fett som er i fast form ved romtemperatur inneholder mer mettede fettsyrer. Fett er bygget opp av 3-karbonforbindelsen **glycerol** med 3 hydroksylgrupper (-OH) hvor 2 eller 3 **fettsyrer** er festet med **esterbinding** mellom syregruppene i fettsyrene og hydroksylgruppeene i glycerol. Glycerolglykolipider inneholder sukker i hodegruppen, og glycerolfosfolipider inneholder fosfat i hodegruppen. I fosfolipidene er det festet fettsyrer ("fettsyrehaler") til to av hydroksylgruppene i glycerol, mens til det tredje hydroksylgruppen er det festet et "hode" med enten **fosfatidylcholin** ( $\text{PO}_3^{2-}$ -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), fosfatidinsyre ( $\text{HPO}_3^{2-}$ ), **fosfatidyletanolamin** ( $\text{PO}_3^{2-}$ -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), hydrogen (-H; diacylglycerol) eller galaktose (galaktolipid). Fosfolipider er polare og en viktig bestanddel av biologiske membraner. Egenskapene til membraner påvirkes av hvilke fettsyrer som inngår og i hvilken grad de er mettet eller umettet. Jo mer umettet fett desto mer flytende egenskaper i membranen. Fosfolipidene er **diglycerider**. Den **hydrofobe** (vannskyende) delen med fettsyrene vender inn i membranen og den **hydrofile** (vannelskende) polare delen av fettmolekylet vender ut mot cytoplasma. Et molekyl som har både hydrofile og hydrofobe egenskaper kalles **amfipatisk**. Det er forskjellige typer **fosfolipider** (glycerofosfolipider) avhengig av hvilke typer fettsyrer og fosforgrupper som inngår i molekylet. Lipider som inneholder inneholder sukker kalles **glykolipider** (glyceroglykolipider). Kloroplastmembranen inneholder omtrent 70 % glykolipider (monogalaktosyldiacylglycerol (MGDG) og digalaktosyldiacylglycerol (DGDG), og ca. 7 % fosfolipider og 7 % sulfolipider.

De vanligste mettede fettsyrene i planter har partall med C-atomer (C12-C20) og er laurinsyre (12:0), myristinsyre (14:0), palmitinsyre (16:0) og stearinsyre (18:0). Antall karbonatomer og antall dobbeltbindinger mellom karbonatomer er angitt i parentes. De vanligste umettede fettsyrene i planter er **oljesyre** (18:1), **linolsyre** (18:2) og **linolensyre** (18:3). Membraner inneholder også en mindre andel sphingolipider og steroler.

I tillegg inneholder plantene andre sekundære fettsyrer bl.a. erukasyre hos korsblomster. Raps (*Brassica napus*) brukt i næringsmiddelindustri har blitt foredlet slik at den inneholder lite erukasyre. Ricinoleinsyre er en hydroksyfettsyre laget fra oleyl-CoA, og som utgjør størstedelen av fettsyrene i ricinusolje fra *Ricinus*. Epoksyfettsyrer f.eks. vernolsyre som blir laget fra linolensyre kan bli videre omdannet til en dihydroksyfettsyre. Petroselinsyre (C18:1) fra *Petroselinum sativum* har umettet karbon på det uvanlig sted i kjeden. Sterculinsyre fra *Sterculia foetida* inneholder en

syklisk propenylring. Jojoba (*Simmondsia chinensis*) lagrer C<sub>20</sub> og C<sub>22</sub>-voksester istedet for triglycerider. Noen plantefamilier inneholder spesielt mye C<sub>8</sub>-C<sub>14</sub>-fettsyrer i fett. Arter i almefamilien (Ulmaceae) kan inneholde mye fettsyrer av typen 8:0 og 10:0; laurbærfamilien (Lauraceae) med 10:0 og 12:0; og muskatnøttfamilien (Myristicaceae) med 14:0. Palmer i palmefamilien (Arecaceae) har stor variasjon i fettsyreinhold. Laurinsyre brukes til såpe og shampo, siden C12 gir en balansert løselighet i polar og upolar fase. Sykliske fettsyrer f.eks. syklopropanfettsyrer finnes i bl.a. i ordenen Malvales eks. kattostfamilien (Malvaceae). Syklopentanfettsyrer finnes i ordenen Malpighiales bl.a. i familien Flacourtiaceae. Allenfettsyrer eks. laballensyre finnes hos *Lamium* i leppeblomstfamilien (Lamiaceae) og i fett hos kinesisk talgtre (*Sapium sebiferum*) i vortemelkfamilien (Euphorbiaceae). **Biooljer** brukes til smøreolje, matolje, margarin, biobrensel, hydraulisk olje, såpe og plastikk. Gamma (γ)linolensyre blir brukt i helsekostremedier.

Lipider danner utgangspunkt for signalstoffer i planter. Linolensyre gir opphav til jasmonat som aktiverer forsvar mot insekter og patogener i plantene. PiP<sub>2</sub> (fosfatidylinositol-4,5-bisfosfat) er et viktig fosfoinositid som deltar i regulering av metabolismen. PiP<sub>2</sub> kan omdannes til IP<sub>3</sub> (inositoltrifosfat) og DAG (diacylglycerol. IP<sub>3</sub> åpner kalsiumkanaler i cellene. Reseptoroverført aktivering via fosfolipase C.

## Spiring av fettfrø - fra fett til sukker

*Sov, du vesle spire ung,  
ennå er det vinter,  
ennå sover bjørk og lyng,  
roser, hyasinter.  
Ennå er det langt til vår,  
langt til rogn i blomstring står.  
Sov, du vesle spire,  
ennå er det vinter.  
Zacharias Topelius.*

Fett inneholder mye karbon og hydrogen i forhold til oksygen, det vil si mye potensiell energi som kan frigis ved oksidasjon. Fettet er lagret i endosperm eller frøblad. Avokado og oliven er eksempler på frukt som inneholder mye fett. Fett (lipider) finnes som opplagsnæring i organeller kalt **oleosomer** i frø.

Fett lagret i oleosomer i frø blir omsatt under frøspiringen. Først brytes hydrolyttisk bindingen mellom fettsyrene og glycerol katalysert av enzymet **lipase**. Lipase finnes i oleosomer eller glyoksysomer. Fettsyrene blir oksideret ved **β-oksidasjon** i **glyoksysomer**. Her spaltes det av to og to karbonatomer i form av acetyl-CoA. Fettsyrer som blir fraktet til glyoksysomer blir i glyoksysomene aktivert til fettsyre-acyl-CoA som er substrat for β-oksidasjonen katalysert av fettsyre-acyl-CoA syntase. Fettsyrene nedbrytes og forkortes hver gang med to karbonatomer, og det dannes NADH og FADH<sub>2</sub> for hver acetyl-CoA som kappes av fettsyren.

Acetyl-CoA fra  $\beta$ -oksidasjonen blir metabolisert til succinat i **glyoksylatsyklus**. Glyoksylatsyklus hindrer fullstendig oksidasjon til karbondioksid og gir mulighet for å lage sukker via glukoneogenesen.

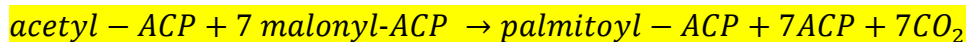
Først reagerer acetyl-CoA med oksaledikksyre og danner citrat katalysert av enzymet citrat syntase. Citrat fraktes ut av glyoksysomene til cytosol og vil ved isomerisering danne isocitrat katalysert av aconitase. Isocitrat reimporteres til glyoksysomene. Deretter spaltes isocitrat med 6 karbondatomer katalysert av isocitrat lyase til succinat med 4 karbonatomer og glyoksylat med 2 karbonatomer. Succinat overføres til mitokondriene og omdannes til malat (eplesyre) ved å bruke en del av trikarboksylsyresyklus. Malat fraktes deretter ut i cytosol og enzymet malat dehydrogenase omdanner malat til oksaledikksyre. Oksaloacetat kan deretter omdannes til karbohydrat. Oksaledikksyre danner fosfoenolpyruvat katalysert i en ATP-avhengig dekarboksyleringsreaksjon katalysert av enzymet fosfoenolpyruvat karboksykinase. Fosfoenolpyruvat kan omsettes ved reversering av glykolysen (glukoneogenesen) til sukker. Hva med glykosylat? Jo, den reagerer med nok et molekyl acetyl-CoA fra fettsyrene og omdannes til malat katalysert av malat syntetase. Deretter lages oksaledikksyre fra malat katalysert av malat dehydrogenase og oksaleddikksyre er klar for å reagere på nytt med et molekyl acetyl-CoA. NADH i glyoksysomene fra  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrer fraktes til mitokondriene via en malat/aspartat skyttel. Aspartat aminotransferase i mitokondriene omdanner oksaleddikksyre og glutamat til aspartat og 2-oksoglutarat. Aspartat fraktes til glyoksysomene og der skjer den motsatte reaksjonen. Aspartat omdannes til oksaleddikksyre og videre til malat som fjerner overskuddet av NADH. Malat fraktes deretter til mitokondriene.

Hos planter skjer  $\beta$ -oksidasjonen i glyoksysomer, mens i dyr skjer  $\beta$ -oksidasjonen i mitokondrier. I vegetativt vev i mungbønner og potetknoller skjer  $\beta$ -oksidasjonen i peroksysomer. Planter kan også utføre  $\alpha$ -oksidasjon av fettsyrer.

## Fettsyresyntese

Lipider inneholder mye energi og fettsyntese krever mye energi. Syntesen av fett skjer i samarbeid mellom kloroplaster (plastider) og endoplasmatisk retikulum. De siste trinnene i syntesen av triglycider skjer i endoplasmatisk retikulum og fett akkumuleres mellom de to dobbeltlagene i enhetsmembranen. Biosyntese av fettsyrer skjer ved kondensering av C2-enheter fra acetyl-CoA. Dyr lager fettsyrer i cytosol, mens planter lager fettsyrer i plastider i et stort enzymkompleks, fettsyre syntase. Kloroplastene er hovedsted for fettsyresyntese i blad med endeproduktene palmitinsyre og oljesyre. Disse fraktes deretter ut i cytosol hvor de omdannes videre til linolsyre og linolensyre. Utgangsmaterialet for biosyntese av fettsyrene er tokarbonthioesteren **acetyl-CoA**, laget fra importert acetat. Lavmolekylært ACP ("acyl carrier protein") hjelper til å koble malonyl-ACP til å forlenge acylkjeden. Malonyl-CoA alges fra acetyl-CoA + CO<sub>2</sub> katalysert av acetyl-CoA karboksylase. Acyl er festet kovalent til ACP via en thioesterbinding. Fettsyrekjede bundet til ACP kalles acyl-

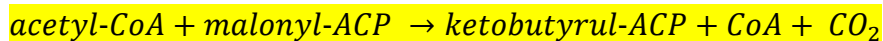
ACP. Malonyl-CoA reagerer med ACP og danner malonyl-ACP



Første trinnet i komplekset fettsyre syntase er at acetyl-CoA omdannes til malonyl-CoA i en ATP-avhengig karboksylering katalysert av **acetyl-CoA karboksylase** som er et av enzymene i komplekset fettsyre syntase. Først bindes karbondioksid til biotin for deretter å bli overført til acetyl-CoA.



Malonylgruppen i malonyl-CoA overføres til et lavmolekylært surt acylbærer protein kalt **ACP** ("acyl carrier protein") og det dannes malonyl-ACP katalysert av **malonyl-CoA:ACP transacylase**. Acylkjeden er bundet med en thioesterbinding. Fra nå av skal det hektes på tokarbonenheter fra acetyl-CoA. Først overføres acetat fra acetyl-CoA til et kondenserende enzym kalt **3-ketoacyl-ACP syntase**.



Ketogruppen ved karbonatom nummer 3 blir redusert via tre enzymer og det dannes butyryl-ACP med fire karbonatomer. Forlengelsen av fettsyrene katalyseres av de fire enzymene 3-ketoacyl-ACP syntase, 3-ketoacyl-ACP reduktase, 3-hydroksyacyl-ACP dehydrase og enoyl-ACP reduktase. Ketogruppen ved karbonatom 3 fjernes som karbondioksid. Det skjer en reduksjon av 3-ketogruppen katalysert av **3-ketoacyl-ACP reduktase** og det dannes 3-hydroksybutyryl-ACP. Deretter skjer det en dehydrering katalysert av **hydroksyacyl-ACP dehydratase** og det dannes *trans*- $\Delta^2$ -butenoyl-ACP. Ved en reduksjon av dobbeltbindingen katalysert av **enoyl-ACP reduktase** blir produktet butyryl-ACP med 4 karbonatomer. Deretter går butyryl-ACP inn i ny syklus hvor det på nytt hektes på to karbonatomer fra malonyl-ACP katalysert av kondenseringsenzym 3-ketoacyl-ACP syntase, og slik fortsetter det inntil kjeden består av 16 (palmitoyl-ACP) eller 18 (stearoyl-ACP) karbonatomer. De fleste umettede fettsyrene inneholder en dobbeltbinding ved karbonatom 9. C18:0-ACP omdannes til C18:1 katalysert av en desaturase. **Stearoyl-ACP desaturase** er et enzym som finnes i stroma i plastidene, trenger oksygen og bruker redusert ferredoksin eller NADPH som elektronkilde. Dette enzymet lager den første *cis*-dobbeltbindingen i fettsyrene, mellom karbon 9 og 10, og produktet blir oleoyl-ACP. Petroselinisyre, som er en fettsyre det er mye av i frø fra skjermplantefamilien, er imidlertid en C18:1 *cis* $\Delta^6$  fettsyre. Selv om fettsyresyntesen skjer i plastider er de fleste genene som koder for enzymene i biosynteseveien lokalisert til cellekjernen. Flere av enzymene som deltar i fettsyresyntesen finnes som isoenzymer og genene for disse finnes i multigenfamilier. Enzymet **acyl-ACP thioesterase** som fjerner ACP fra fettsyrene er med å bestemme hvor lange fettsyrene skal bli. Fettsyrene kan også bli modifisert etter at de er bundet til glycerol.

Hvordan lage glycerol-3-fosfat og veien videre til fett



Endring av acylkjeden via hydroksylering, avmetning og forlengelse skjer utenfor plastidene. Syntese av fett (triglycerider) skjer via Kennedy-biosynteseveien på endoplasmatisk retikulum. Fosfat fjernes fra fosfatidinsyre og gir diacylglycerol som danner et greiningspunkt mellom dannelse av fosfatidylcholin i membranene og triglycerider for lagring av fett.

Glycerol-3-fosfat, som er den aktive formen av glycerol i syntese av lipider, lages fra dihydroksyacetonfosfat katalysert av enzymet **dihydroksyacetonfosfat reduktase**. Det er også en mulighet for at glyceraldehyd-3-fosfat kan defosforileres til glycerol katalysert av **defosforylase reduktase**. Deretter kan glycerol-3-fosfat lages med hjelp av enzymet **glycerol kinase**. Sukker til galaktolipidene kommer via UDP-galaktose.

Neste trinn for å lage triglycerider er to acyleringsreaksjoner hvor fettsyrene bundet til ACP (acyl-ACP) eller acyl-CoA reagerer med glycerol-3-fosfat og gir fosfatidinsyre. En fosfatase gir deretter diacylglycerol (DAG). Fosfatidinsyre kan også omdannes til fosfatidylinositol eller fosfatidylglycerol. Acylering av glycerol-3-fosfat skjer inne i plastider fra fettsyrene som CoA-estere (palmitoyl-ACP og oleoyl-ACP).

Syntese av glycerollipider kan skje via to alternative veier:

- 1) **Prokaryotisk vei** i plastider som bruker C16:0-ACP og C18:1-ACP for å lage fosfatidinsyre. Eller fettsyrene kan bli eksportert til cytoplasma som CoA-estere.
- 2) **Eukaryotisk vei** i cytoplasma bruker egne acetyltransferaser for å inkorporere i fosfatidinsyre og derivater av denne.

Arabidopsis og spinat bruker begge veier, men mange angiospermer bruker prokaryotisk vei til å lage fosfatidylglycerol, mens resten av lipidsyntesen skjer via eukaryotisk vei.

I kloroplaster lages lipidene, kalt **prokaryote lipider**, ved overføring av acylgruppen fra ACP til glycerol-3-fosfat i en esterifiseringsreaksjon i *Sn1*-posisjon katalysert av **glycerol-3-fosfat-acyltransferase**. I denne reaksjonen overføres oljesyre til *Sn1*-posisjon i glycerol. Det dannes *lyso*-fosfatidinsyre (*Sn1*-1-oleoyl-glycerol-3-fosfat). I neste trinn katalysert av *lyso*fosfatidinsyre acyltransferase (1-acylglycerol-3-fosfat acyltransferase) lages fosfatidinsyre (1,2-diacyl-glycerol-3-fosfat). Siden *Sn1*-posisjonen allerede er opptatt plasseres som oftest palmitinsyre (C16:0) i *Sn2*-posisjon. Esterifisering av *Sn3* katalyseres av en **diacylglycerol acyltransferase**.

Fosfatidinsyre kan enten brukes til å lage fosfatidylglycerol eller diacylglycerol. Første trinn på veien til **fosfatidylglycerol** er en reaksjon mellom fosfatidinsyre og CTP katalysert av **fosfatidat cytidyltransferase** og det dannes CDP-diacylglycerol. Deretter hektes det på glycerol-3-fosfat i *Sn3*-posisjon katalysert av **CDP-diacylglycerol-glycerol-3-fosfat 3-fosfatidyltransferase**. En **fosfatidylglycerofosfatase** fjerner fosfat og den **desaturase** kan lage fettsyrene mer umettet.

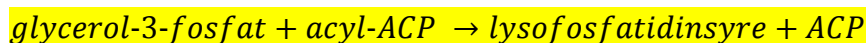
Første trinn på veien til **diacylglycerol** er fjerning av fosfat fra fosfatidinsyre katalysert av **fosfatidat fosfohydrolase**. Alternativt kan det henges på sukker fra UDP-galaktose i *Sn3*-posisjon katalysert av **MGDG syntase** for å lage glykolipider eller

UDP-sulfoquinovose katalysert av **sulfolipid syntase** for å lage sulfolipider.

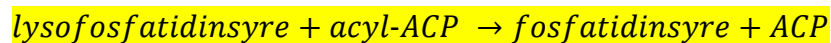
Lipider som lages i cytoplasma kalles **eukaryote lipider** fordi det har en fettsyresammensetning som man finner hos dyr.

## Galaktolipider MGDG og DGDG, fosfolipider og sulfolipider

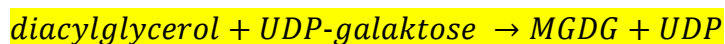
Galaktolipider lages av enzymer i kloroplastmembranen fra glycerol-3-fosfat fra cytoplasma som sammen med Acyl-ACP (ACP- "acyl carrier protein") gir lysofosfatidinsyre



som igjen binder acyl-ACP og gir fosfatidinsyre.



Fosfatidinsyre omdannes til diacylglycerol



katalysert av UDP-galaktose diacylglycerol galaktosyltransferase.  
Neste enzym danner slutten UDP-galaktose-MGDG galaktosyltransferase:



eller galaktolipid galaktosyltransferase

## Flytende planteoljer

Planteoljene er flytende ved romtemperatur på samme måte som olje fra marine organismer. Planteoljer fås fra frø som har mye fett som opplagsnæring slik som solsikke, soyabønner, mais, kokosnøtter, raps og lin. Fettet kan presses ut av frøene. De viktigste umettede fettsyrene i planteoljer er oljesyre, linolsyre og linolensyre og fett med disse har vist seg å være gunstige ernæringmessig i forhold til mettede fettsyrer fra dyreriket. Jo kaldere en plante vokser desto mer umettede fettsyrer inneholder membranene. Dette er en måte planten kan holde membranene mest mulig lettflytende ved lav temperatur. Fettsyrene fra planteriket er ikke bare uskyldige. Opptil 50 % av fettene i noen eldre varieteter av raps inneholder erukasyre. Dette er en umettet fettsyre som gir "fett hjerte" hos forsøksdyr. Sterculinsyre er en giftig syklisk fettsyre.

Helseeskader som følge av petroleumbaserte oljer har ført til økt interesse for bruk av planteoljer til industriformål f.eks. til skjæreoljer. I behandling av treverk har linolje

vært mye brukt. Linolje tørker i luften når fettsyrene reagerer med oksygen i lufta. Kokt linolje, som er linolje kokt med blyoksid, tørker forttere enn den rå linoljen. Ekte linoleum er et gulvbelegg som er laget av linolje og presset og festet på et nettverksunderlag av jute. Planteoljene er også brukt i hudkrem.

## Oksidasjon av fettsyrer

Linolensyre brukes også som utgangsmateriale for å lage plantehormonet jasmonat. Hydroperoksider av de umettede fettsyrene linolsyre og linolensyre lages i en reaksjon katalysert av **lipoksygenase**. Lipoksygenaser er ikke-hem jernproteiner som oksiderer fettsyrer som inneholder et sete med *cis-cis*-1,4-pentadien. Lipoksygenasene forekommer som isoenzymer og har flere funksjoner i plantene.

## Jord, vann og vanntransport

Vann er en vegetasjonsfaktor som begrenser planters vekst, og vanning er den eldste form for vekstfremmende middel. Atmosfæren er ofte relativt tørr, noe som gir dehydrering av plantene. Vanntransporten i plantene er passiv, men plantene kan kontrollere og erstatte vanntapet. Ikke all nedbøren blir like tilgjengelig for plantene. I en høyvokst skog vil deler av nedbøren bli hengende igjen i bladverk, stamme og greiner og fordampe derfra, eller dryppe sakte ned. Jord har forskjellig evne til å absorbere og holde på nedbøren.

Vanninnholdet i jorda påvirkes av jordtype, jordstruktur, grad av korning og mengden organisk materiale. Fordeling av kornstørrelser i jorda bestemmes ved videre sikting av materiale som kommer igjennom en sikt med 2 mm åpninger. Fordeling av leire, silt og sand angir type jord. Sandkorn med 1 mm diameter har liten overflate per gram jord og har store rom mellom sandkornene. Vann trenger lett gjennom jord med høyt innhold av sand og stein. Jo mindre partikler og luftrom, desto saktere renner vannet. Leire og organisk stoff med partikkelstørrelse mindre enn 2 µm har store overflater per gram jord (100-1000 m<sup>2</sup>/gram) og det er lite kanaler mellom partiklene. Leire kan holde på store mengder vann sammenlignet med sandjord. Det er en vannfilm rundt jordpartiklene og vann i kanaler mellom partiklene. Luft kan fanges i kanalene. Vannet er bundet ved overflatekrefter, men vannet kan være bundet så hardt at det ikke er tilgjengelig for planter. Negativt hydrostatisk trykk i jordvannet senker vannpotensialet i jorda. I jord er det osmotiske potensialet lite pga. lite oppløst stoff. En jord hvor gravitasjonsvannet har rent vekk sies å være ved **feltkapasitet** og angir vannholdkapasiteten til jorda. Leirjord og jord med høyt humusinnhold har høy feltkapasitet. Vann som beveger seg fritt i jorda vha. tyngdekraften kalles fritt eller hydrostatisk vann og samles til slutt som et homogent grunnvann. Grunnvann kommer fra permanente kilder. Vann er bundet i jordpartikler, stiger kapillart og kalles vedhengsvann. Den kraft som vannet holdes fast med kalles jordas sugekraft. Hvilke mengder og hvor hardt vannet bindes i jorda avhenger av jordtypen. **Permanent visningspunkt** er den vannmengde som er igjen i jorda etter at plantene ikke lenger klarer å få tak i vann fra jorda. Ved permanent visningspunkt

kan ikke plantene starte å vokse på nytt og gjenopprette turgor selv om de får tilført mer vann. Permanent visningspunkt er omtrent den samme for alle jordtyper, men permanent visningspunkt er avhengig av planteart. Det vannet som er tilgjengelig for bruk i plantene befinner seg mellom feltkapasitet og permanent visningspunkt.

I arktiske strøk og fjellområder vil tele hindre vann å komme ned i jorda og om våren vil jorda være oversvømt inntil jorda tiner og vannet kan bli drenert vekk. Ved overgang til ferskvann vil det være soner hvor plantene må tilpasse seg tidvis oversvømming og uttørking. På myrer er noen planter tilpasset å vokse på tuer. Bjerk (*Betula*) trives på fuktig jord, og det samme gjør graset blåtopp (*Molinia coerulea*) og bjønnskjegg (*Scirpus cespitosum*).

Vass-slirekne (*Persicaria amphibia*) har amfibievekst og får svært forskjellig morfologi om den vokser på land eller i vann. Planter som er tilpasset god vanntilgang f.eks. springfrø (*Impatiens noli-tangere*) har tynne blad med lite utviklet kutikula.

Transpirasjon er en bieffekt av fotosyntesens behov for karbondioksid, men i tillegg til å avkjøle bladene ved høy solinnstråling deltar transpirasjonsstrømmen i frakt av mineralnæring fra jorda og opp i planten. Det kan imidlertid skje transport i xylemet uten transpirasjon, et fenomen kalt rottrykk. Ca. 97% av vannet som blir tatt opp av plantene transpireres og brukes til avkjøling og dissipering av varmeenergi, og mindre enn 1 % av vannet brukes i fotosyntesen og inkorporeres i biomassen. Ved transpirasjon beveger vann seg gjennom cytoplasma, cellemembran, cellevegg og ut i intercellularrom og videre ut i lufta omkring planta. Generelt som innen all stressfysiologi kan plantene enten forsøke å unngå eller tolerere vannmangel.

Vannmolekylet ( $H_2O$ ) har en vinkel  $105^\circ$  mellom O og H. Oksygenatomet er mer **elektronegativt** enn hydrogenatomet slik at det blir negativ ladning på O med 6 elektroner i ytre orbital og positiv ladning på hver H med ett elektron i orbital, men vannmolekylet har ingen netto ladning. Motsatte ladninger gir intermolekylære hydrogenbindinger. **Hydrogenbindinger** gir vannet mange av dets spesielle egenskaper (høy overflatespenning, termiske egenskaper med høy spesifikk varme og høy latent fordampningsvarme). Spesifikk varme er varmeenergi som trengs for å heve temperaturen en bestemt mengde, og virker som en buffer mot raske temperaturendringer. Latent fordampningsvarme er energien som trengs for å atskille vannmolekyler fra væskefase til gassfase ved konstant tempertur, og transpirasjon ved  $25^\circ C$  tilsvarer dette energimengden 44 kJ per mol. Hydrogenbindingene gir svak elektrostatisk tiltrekning og økt løselighet av polar stoffer som ioner, sukker og protein med polare grupper (-OH, -NH<sub>2</sub>). Vann danner hydratiseringsskall rund ioner og molekyler. Vann i overgangen mellom vann og luft er mer tiltrukket av vannmolekyler i vann enn av luft, noe som gir redusert overflateareal. For å øke overflatearealet må hydrogenbindinger brytes, dvs. krever energitilførsel. Energi som trengs for å øke overflaten er overflatespenningen (overflatetensjonen). Overflatespenningen påvirker form av vannet og skaper trykk i væsken. Vannmolekylene vibrerer raskere ved økende temperatur.

## Diffusjon

**Diffusjon** er netto bevegelse av molekyler fra områder med høy konsentrasjon til områder med lav konsentrasjon. Diffusjon er bevegelse ved tilfeldige termiske bevegelser. Bevegelse av molekyler ved diffusjon skjer spontant ned en fri energigradient (kjemisk potensialgradient). Spontant betyr ikke nødvendigvis raskt. Ved likevekt stopper netto transport. **Passiv transport** er diffusjon av molekyler fra et sted med høyt kjemisk potensial til et sted med lavere kjemisk potensial, og skjer altså spontant ned en gradient. Spontant betyr ikke nødvendigvis raskt. Bevegelse av stoff mot en gradient i kjemisk potensial indikerer **aktiv transport**, den er ikke spontan, og krever arbeid og cellulær energi koblet til hydrolyse av ATP.

Ficks 1. diffusjonslov:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad \left( \frac{\text{mol}}{\text{m}^2 \text{ s}} \right)$$

hvor  $J$  er diffusjonsfluksen (mengde stoff som passerer per areal og tidsenhet),  $c$  er konsentrasjon og  $x$  er avstand.  $D$  er diffusjonskoeffisienten (en proporsjonalitetskonstant) hvor større molekyler har lavere  $D$ . Negativt fortegn viser at diffusjonen skjer ned en konsentrasjonsgradient. Diffusjonskoeffisienten er avhengig av det omgivende medium. Diffusjonen i luft skjer mye raskere i luft enn i vann, ca. 10.000 ganger raskere. Diffusjonen skjer raskere ved høy temperatur enn ved lav. Det skjer raskere diffusjon hvis det er en bratt konsentrasjonsgradient eller hvis diffusjonskoeffisienten øker. Plantene på landjorda har en utfordring med en relativt tørr atmosfære og en lav  $\text{CO}_2$ -konsentrasjon.

Ved **Ficks 2. diffusjonslov** bringes tid inn som en faktor i diffusjonen. Ved utregningen av Ficks andre lov baserer man seg på at alle molekylene er konsentrert ved et startpunkt og det er en konsentrasjonsfront vekk fra startpunktet. Lenger vekk fra start blir konsentrasjonsgradienten mindre bratt og netto bevegelse går saktere. Hvis vi lager et estimat over tiden som går fra start til konsentrasjonen har sunket til ca. 35% av utgangsverdien, en gjennomsnittstid ( $t$ ) for å diffundere avstanden  $L$  så har vi:

$$t = \frac{L^2}{D}$$

Diffusjonen er proporsjonal med kvadratet av avstanden. Det betyr rask diffusjon over korte avstander og meget sein diffusjon over lange avstander. Diffusjonskoeffisienten for glukose i vann er ca.  $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ . Diffusjonen over en celle med diameter  $50 \mu\text{m}$  tar ca. 2.5 sekunder, men er diffusjonsveien 1 meter er tiden ca. 32 år.

## Osmose

Osmose er transport av vann over membraner. Osmose er drevet av en

vannpotensialgradient. Membranene er selektivt permeable, og små uladete molekyler slipper lettere igjennom enn større ladete. Ioner kommer igjennom ionekanaler og vann følger vannkanaler (akvaporiner). Membraner har hydraulisk konduktivitet, og åpning av akvaporiner er styrt av blant annet pH og konsentrasjonen av kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Ved molekylær diffusjon skjer en forflytning av stoff ned en konsentrasjonsgradient. Trykkdrevet massestrøm skjer langs en trykkgradient. Ved osmose virker både konsentrasjons- og trykkgradient. Retning og fluksrate av vann som krysser membranen bestemmes av både konsentrasjons- og trykkgradient.

## Vannpotensial – vannets evne til å utføre arbeid

Alle organismer må ha tilførsel av fri energi for å kunne opprettholde vekst og organiserte strukturer. Biokjemiske reaksjoner, akkumulering av oppløst stoff og langdistansetransport trenger tilførsel av fri energi. Vannpotensial er et begrep som brukes når man skal forklare vanntransporten i planter, og beskriver vannets evne til å utføre arbeid i jord, i plantene og i atmosfæren. **Vannpotensialet** er det **kjemiske potensialet** til vann dividert på molvolumet for vann ( $18 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$ ). Kjemisk potensial til vann er den frie energien til vann. Kjemisk potensial er et relativt mål, dvs. potensialet til den aktuelle substans sammenlignet med den samme substans ved standardbetingelser. Kjemisk potensial er summen av alle kreftene (konsentrasjon, elektrisk- og hydrostatisk potensial) som virker på molekyler og kan gi netto transport. Kjemisk potensial sier noe om vannets evne til å utføre arbeid og har enheten energi per mol ( $\text{J mol}^{-1}$ ). Ved å dividere på molvolumet for vann, får man enheten i Pascal (Pa), altså trykk, men vi må huske på at enheten sier noe om evne til å utføre arbeid. Megapascal (Mpa) =  $10^6$  Pa. Vannpotensialet blir et mål på fri energi per volumenhet med vann ( $\text{J m}^{-3}$ ). Vannpotensialet angis med den greske bokstaven psi. I et isotermt system med to reaksjonsrom atskilt av en semipermeabel membran vil vannet bevege seg gjennom membranen til det reaksjonsrommet som har lavest vannpotensial. Vannpotensialet ( $\psi$ ) består av tre komponenter: oppløste stoffer ( $\psi_s$ ), trykk ( $\psi_p$ ) og gravitasjon ( $\psi_g$ ).

$$\psi = \psi_s + \psi_p + \psi_g$$

Alle potensialer har en referanseverdi, og referansen hvor vannpotensialet defineres som null er rent vann ved trykk og temperatur som omgivelsene.

**Osmotisk potensial** ( $\psi_s$ ) skyldes effekten av oppløste stoffer på vannpotensialet. Blanding av oppløste stoffer og vann øker uorden i systemet (gir økt entropi) og senker den frie energi. Osmotisk potensial er mindre eller lik 0. Minusfortegn viser at oppløst stoff senker vannpotensialet relativt til rent vann. I tynne ideelle løsninger kan det osmotiske potensialet bestemmes fra van't Hoff's ligning:

$$\psi_s = -RTc$$

hvor  $R$  er gasskonstanten  $8.32 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ,  $T$  er absolutt temperatur i Kelvin og  $c$  er

konsentrasjon uttrykt som osmolalitet (mol per liter). F.eks. vil 0.1 mol NaCl gi 0.2 mol  $L^{-1}$ .

**Trykkpotensial** ( $\psi_p$ ) er det hydrostatiske trykket til løsningen. Positivt trykk øker vannpotensialet. Et positivt hydrostatisk trykk inne i en celle på grunn av celleveggen kalles **turgortrykk**. Hydrostatisk trykket måles som avvik fra atmosfæretrykket. Turgortrykk gir styrke og stabilitet i cellevev uten lignin. Turgortrykk er nødvendig for vekst, opptak av  $CO_2$ , åpning av spalteåpninger og floemtransport. Trykkpotensialet for vann i en åpen beholder defineres derfor som 0 MPa. Hvis trykkpotensialet er mindre enn 0 reduseres vannpotensialet og gir negativt hydrostatisk trykk, tensjon. Negativt trykk (tensjon) på utsiden av levende celler er viktig for langdistansetransporten av vann. Vann settes under vakuüm får trykkkomponenten av vannpotensialet verdien -0.1 MPa og det absolutte trykket blir 0 MPa. Vann beveger seg ned en vannpotensialgradient. Vann beveger seg alltid til stedet med lavest (mest negativt) vannpotensial, fra høyt til lavt potensial. Vannstrømmen over en membran er en passiv prosess. Vann beveger seg som respons på fysiske krefter til områder med lavere vannpotensial eller lavere fri energi. Hvis vanntransporten er koblet til transport av oppløste stoffer blir vanntransporten indirekte avhengig av aktiv transport.

Trykkpotensialet angir **hydrostatisk trykk** til løsningen. Når trykkpotensialet er positivt inne i en celle kalles det **turgortrykk**. Det er et positivt trykk mot celleveggen som skyldes høy konsentrasjon osmotisk aktive stoffer i cytoplasma og vakuole. Pga. Celleveggen gir en liten økning i cellevolum stor økning i hydrostatisk trykk. Når det er negativt hydrostatisk trykk i en celle f.eks. døde celler i xylem kalles det **tensjon**. Slik tensjon er det også i celleveggene som vender mot intercellularrommene. Det hydrostatiske (turgor) trykket er oftest positivt i parenkymatiske celler. I vedrør og trakeider er det hydrostatiske trykket mindre enn 0 (tensjon) så lenge som luften omkring planten ikke er mettet med vanddamp. Det hydrostatiske trykket kan være større, mindre eller lik 0. Hydrostatisk trykk måles som avvik fra lufttrykket, og ved atmosfæretrykket settes  $P=0$  slik at man regner eventuelle forskjeller fra atmosfæretrykket. Er  $P=1$  betyr dette en atmosfære utover atmosfæretrykket, altså 2 atmosfærer trykk. Trykkpotensialet kan være større, mindre eller lik 0. P.g.a celleveggen vil det kunne bygges opp et stort hydrostatisk trykk i plantecellen. Vær oppmerksom på at ved absolutt vakuüm vil trykkpotensialet ha verdien -0.1 MPa ( $P=-1$ ), mens **absolutt trykk** er 0 MPa. Ved grenseplasmolyse er trykkpotensialet lik 0.

Sukkerbete, sukkerrør og vindruer har lavt osmotisk potensial ( $\Psi_s$ ) inntil -2.5 MPa. Halofytter har også lav  $\Psi_s$  i rotcellene for å redusere vannpotensialet slik at de lettere kan ta opp vann fra sjøvann. Vannpotensialet og størrelsen av de enkelte komponentene i vannpotensialet, osmotisk potensial og trykkpotensial varierer i de forskjellige delene av planten. Vanligvis er  $\Psi_s = -0.5$  MPa, varierer fra -0.8 til -1.2 MPa, inne i planteceller. I apoplast kan osmotisk potensial være -0.1 til 0 MPa. Vedrør i røttene har større diameter enn de i stammen, og det er generell økning i trakeidediameteren fra blad til røtter. Noe som kan henge sammen med polar transport av auxin.



Gravitasjon får vann til å bevege seg nedover hvis det ikke er en like stor og motsatt virkende kraft. Gravitasjonskreftene får vann til å bevege seg nedover.

**Gravitasjonspotensialet** ( $\psi_g$ ) er ca.  $0.01 \text{ MPa m}^{-1}$ , dvs. atmosfæretrykket ( $0.1 \text{ MPa}$ ) kan holde oppreist enn vannsøyle på ca. 10 m. Dette betyr at en sugepumpe som arbeider ved atmosfæretrykk ikke kan løfte vann høyere enn 10.3 meter.

Hvis et langt tynt rør fylles med vann og tettes i den ene enden og settes på høykant ned i vann med den åpne enden vil vannet stå maksimalt 10.3 m, over dette vil det være vakuum. Allikevel er det fullt mulig for f.eks. *Sequoia sempervivens* eller *Eucalyptus regnans* å frakte vann over 100 meter høyt. For å løfte en viss mengde vann ( $m_w$ ) en høyde  $h$  over referansevannet må det utføres et arbeid  $W$  som er lik kraft·vei. Kraft er lik masse·tyngdens aksellerasjon ( $g = 9.81 \text{ m s}^{-2} = 9.81 \text{ Nkg}^{-1}$ ). Potensiell energi ( $W$ ) på grunn av tyngdekraften er:

$$W = m_w g h \quad \left( kg \frac{m}{s^2} m = kg \frac{N}{kg} m = Nm = J \right)$$

hvor  $m$  er masse og  $g$  er tyngdens aksellerasjon.

Den potensielle energien til 1 mol vann via den molare massen ( $m_v = 0.018016 \text{ kg mol}^{-1}$ ) gir gravitasjonspotensialet ( $\psi_g$ ).

$$\psi_h = \frac{m_v}{V_v} g h = \rho_v g h = \left( \rho_v g = 0.0098 \frac{\text{MPa}}{\text{m}} \right) \cdot h$$

$\rho_v$  er tettheten til vann.

Det betyr at det kjemiske potensialet til vann (ett mol) øker med ca.  $0.01 \text{ MPa}$  per meter. Gravitasjonspotensialet har mindre betydning for bevegelse av vann og ioner i en plantecelle, men er viktig for bevegelsen av vann i et høyt tre. Trykket under vann stiger med en atmosfære for hver 10 m (Pascals lov).

$$1 \text{ Pa} = \frac{1 \text{ N}}{\text{m}^2} = \frac{1 \text{ J}}{\text{m}^3}$$

1 atmosfære = 760 mm Hg ved havnivå ved  $45^\circ$  breddegrad =  $1.013 \text{ bar} = 0.1013 \text{ MPa}$ .

Trykket i et bildekk er ca.  $0.2 \text{ MPa}$ .

I jord og tørre frø er det en til lag med vann nær overflater som gir interaksjoner mellom osmotisk potensial og trykkpotensial, og beskrives felles med begrepet **matrikspotensial** ( $\Psi_m$ ). Matrikspotensial beskriver energiforholdene for vann bundet til ladete overflater f.eks. til cellevegger i frø og xylem eller vann i jord.

Matrikspotensialet vil alltid ha en verdi lavere enn 0.

I jord er det mange små porer som kan holde på kapillært bundet vann. Kohesjon, adhesjon og overflatespenning gir kapillarkrefter. Kapillarene skaper et negativt trykk (tensjon). Vann løftes inntil kreftene som virker opp og ned blir like store.

Kreftene som trekker på vannet i en pore med radius  $r$  og omkrets  $2\pi r$  blir:

$$2\pi r \sigma \cos\alpha$$

$\sigma$  er overflatespenningen til vann, ved 20°C lik 0.0728 N m<sup>-2</sup>, og  $\alpha$  er kontaktvinkelen mellom væskeoverflaten og veggen til poren. Kontaktvinkelen bestemmer i hvilken grad vann tiltrekkes til en overflate. Hvis vann fukter overflaten er kontaktvinkelen tilnærmet lik 0. Kreftene som virker på overflaten til poren blir lik:

$$P = -\frac{2\pi r \sigma \cos\alpha}{\pi r^2} = -\frac{2\sigma}{r}$$

En pore med radius 1  $\mu\text{m}$  gi et hydrostatisk trykk på -0.15 MPa.

Ved feltkapasitet er vannpotensialet i jorda ca. -0.01 MPa. For urtaktige planter er permanent visningspunkt ved ca. -1.5 MPa. Matrikspotensialet bidrar mest til vannpotensialet i jord. Etter hvert som jorda tørker ut vil det resterende vannet sitte hardere og hardere bundet. I noen tilfeller hvor de dypere jordlag inneholder mye vann og det øverste jordlaget er tørt har vann mulighet til å bruke røtter som en "vannheis" hvor vannet kommer inn i røttene dypt ned og kommer ut av røtter nær jordoverflaten. Dette kan spesielt skje om natten.

## Vannpotensial i luft

Vanndamp er en gass som har sitt eget partialtrykk (vanndamptrykk). Vanndamptrykket ( $e$ ) øker med temperaturen. Når luften er mettet ved vanndamp ved en bestemt temperatur har vi **vanndampmetningstrykk** ( $e_s$ ) s- "saturated".  $e_a$  er det aktuelle vanndamptrykket a - "ambient".  $e_a$  kan maksimalt bli lik  $e_s$ . Vanninnholdet i luft kan måles som **relativ fuktighet** ( $RF$ ) målt i %.

$$RF = \frac{e_a}{e_s} 100$$

Vanndampinnholdet i lufta kan også angis som **vanndamptrykkdeficitt**:  $e_s - e_a$

Det kjemiske potensialet til vanndamp i luft blir:

$$\mu = \mu^* + RT \ln\left(\frac{e_a}{e_s}\right) = \mu^* + RT \ln\left(\frac{RF}{100}\right)$$

Vannpotensialet til vanndamp i luft blir:

$$\Psi_{vanndamp} = \frac{RT}{V_v} \ln\left(\frac{RF}{100}\right)$$

$R$  er 0.0083143 J · MPa · mol<sup>-1</sup> · K<sup>-1</sup>.

Når luften er mettet med vanndamp ved en gitt temperatur dvs.  $RF = 100$  % blir

vannpotensialet for vanndamp i luft lik 0.

## Trykkdrevet massestrøm

**Trykkdrevet massestrøm** gir langdistansetransport av vann med oppløste stoffer og er en bevegelse av en samlet gruppe molekyler drevet av en **trykkgradient**.

Eksempler på trykkdrevet massestrøm er langdistansetransport i xylem, vannstrøm i jord og vannbevegelse i cellevegger. Andre eksempler på trykkdrevet massestrøm er regn, en elv eller vann som kommer ut av en hageslange. Massestrøm er avhengig av radius ( $r$ ) til transportrøret og viskositeten ( $\eta$ ) til væsken.

Trykkgradienten  $\Delta\psi_p/\Delta x$  driver massestrømmen. I motsetning til diffusjon er trykkdrevet massestrøm uavhengig av konsentrasjonen av oppløst stoff (solutkonsentrasjonsgradienten), så lenge som viskositeten ikke blir nevneverdig påvirket. Vannfluksen i rør kan beskrives tilnærmet av **Hagen-Poiseuilles ligning**. Hydraulisk konduktanse som funksjon av radius i fjerde potens:

$$volumflowrate = \frac{\pi r^4}{8\eta} \cdot \frac{\Delta\psi_p}{\Delta x}$$

Strømraten påvirkes sterkt av radius, hvis radius dobles øker volumflowraten 16 ganger ( $2^4$ ).

## Xylemtransport - transport av vann og næringsalter fra jord til blader

*"Det er mer vann i agurk, enn det er vann i sjøvann"* Det er en snev av sannhet i dette hvis vanninnholdet i en agurk er 97 % og sjøvann inneholder 3.5 % salt. Med unntak av tørre frø med vanninnhold 5-15 % er vanninnholdet i planter høyt, fra 35 - 95 % av friskvekten i urtaktige planter. Ved inneholder ca. 35-75% vann. Fra 500-100 gram vann tatt opp av plantene blir det produsert ca. 1 gram organisk stoff. Overgangen fra vannplanter til terrestre planter krevet store tilpasninger. For å kunne ta opp karbondioksid til bruk i fotosyntesen må plantene stå i kontakt med en stor mengde luft. Dette medfører et stort vanntap fra plantenes overjordiske overflater.

Vanntransporten skjer i vedvevet (xylem). Xylem i rotas står i direkte kontakt med vedvevet i stammer, grener stengler og blader. Formålet med vanntransporten er å frakte vann og med oppløste næringsalter til alle deler av planten. Når vann fordampes fra overflatene er plantene gir det i tillegg en kjølede effekt, noe som er av betydning ved sterk solinnstråling. Ca. 95 % av alt vannet planten tar opp går rett igjennom planten, og bare ca. 1 % brukes i fotosyntesen. En fullvoksen bjerk kan miste 70 liter vann om dagen og opptil 400 liter hvis det er svært varmt. Dette betyr at skogen gir en betydelig drenering av jorda. Vanligvis trenger plantene fra 500 - 1000 liter vann for å lage ett kilo tørrstoff. Det vil si at det trengs ca. 500 liter vann for å lage 1 kilo korn. Vannstress er et biologisk eksempel på økonomenes lov om tilbud og etterspørsel. Celleinnholdet klapper sammen omtrent som lufta går ut fra en ballong.

Alle organismer trenger vann. Det er dette vi benytter oss av ved å tilføre store konsentrasjoner medsalt eller sukker som binder vann for å hindre vekst av mikroorganismer i matvarer.

## Adhesjon- kohesjon-tensjon teorien

Vanntransporten i planter skjer uten bruk av metabolsk energi. Energien til å drive vanntransporten kommer fra sola som gir temperaturøkning i bladene og omgivelsene. Overflatene til mesofyllcellene i bladene står i kontakt med lufta utenfor plantene. Celleveggene virker som et kapillart nettverk (veke) hvor vannet bindes til cellulosefibrillene og pektin ved adhesjon. Høy overflatespenning og adhesjon gir **tensjon** (negativt hydrostatisk trykk) i vannmeniskene på utsiden av mesofyllcellene. Tensjonen skapes i celleveggene til mesofyllcellene når vann fordampes fra overflatefilmen. Når radius på meniskene minner øker tensjonen. Jo mer vann som fordampes desto kraftigere tensjon. Det er direkte kontakt fra blad til luft via intercellularrom og spalteåpninger. Mesteparten av vannet går ut gjennom bladet via spalteåpningene. Vann trekkes fra xylem inn i celleveggene i mesofyll hvor mer vann fordampes ut i intercellularrommene i bladene. Vannet passerer grenselaget på utsiden av bladene. Karbondioksid diffunderer motsatt retning av vannet langs en konsentrasjonsgradient. Vann under tensjon overfører kreftene til celleveggene, og lignifiserte xylemceller hindrer kollaps. Planter som utsettes for stor tensjon har tykkere cellevegger i xylemet.

Kohesjonsteorien for vanntransport ble først utformet av Dixon & Joly i 1894 og Askenasy i 1895. Den ble videreutviklet av Scholander med en kompenserende trykkteori. Zimmermann mente at det måtte være et vevtrykk som hindret kavitering. Vann har høy strekningsstyrke (>30 MPa) dvs. den maksimale krafter per enhetsareal uten av vannsøylen brister er stor. Vann i kapillarer kan motstå tensjon som er mer negativ enn -30 MPa. **Kavitering** oppstår hvis det dannes en gassboble under vann under tensjon hvor gassboblen ekspanderer uendelig, det skjer en implosjon og tensjonen i væskefasen forsvinner. Vannet i treet er bundet til celleveggene med **vedhengskrefter (adhesjon)** mellom vann og fastfase, dvs. cellevegg, og sammen med **sammenhengskrefter (kohesjon)**, hydrogenbindinger gir gjensidig tiltrekning mellom vannmolekyler) mellom vannmolekylene gjør det mulig med en sammenhengende vannfase fra jorda via rota til bladene på toppen av et tre som kan bli over 100 m høyt.

Det er sannsynlig at problemer med å få vann opp til toppen begrenser høyden av de høyeste trærne i verden. I norsk skog trenger ikke vannet å komme høyere enn 45 meter som en høydereorden for et norsk grantre. I utgangspunktet blir ikke vannet fraktet opp i xylemcellene i ledningsvevet, men er der allerede i starten når cellene som skal differensieres til xylem lages fra vekstlaget (det vaskulære kambiet) eller vekstpunktet (apikalt meristem). Kohesjon, adhesjon og overflatespenning gir

kapillarkrefter som er viktig for vann i porer mellom celler eller i jord. Når vann fordampes fra meniskene som vannet danner rundt cellene i blader eller nåler, ut gjennom spalteåpninger eller kutikula, skapes det en tensjon i vannet. Kohesjonskreftene til vann er imidlertid så sterke at vanligvis vil ikke vannet i xylemceller bryte. Adhesjonskreftene gjør at vannet holdes fast til celleveggene og i kapillare hulrom. Måles diameteren på et tre vil man se at det har mindre diameter om dagen når treet har stort vanntap, enn om natten. Dette skyldes tensjonen i vannet i trakeider og vedrørselementer i stammen. Veggfortykkelser i xylemet virker som styrkevev og gjør at xylemcellene ikke klapper sammen på grunn tensjonen. At det skal kunne være tensjon i vannledningsvevet forutsetter at cellene er helt fylt med vann. Prinsippet er det samme som en sprøyte fylt med vann. Holder vi for spissen av sprøyte med vann og trekker i stempelet får vi forskjellige trykk på utsiden og innsiden av sprøyten, vannet er under tensjon og har negativt trykk. Slik har også vannet det i det døde ledningsvevet når plantene transpirerer. Bortsett fra at vann i plantecellene bindes hardere til veggene enn til veggen i sprøyten. Trykker vi stempelet inn og fremdeles holder for spissen på har vannet i sprøyten et positivt trykk. Eksperimenter med **Scholanders trykkammer** indikerte at det var tensjon i xylemet. Et skudd fra en plante ble forseglet opp ned inne i en lukket beholder hvor snittflaten var utenfor. Skuddet ble tilført trykk fra en gassflaske, og ved det trykket hvor vannet akkurat presses tilbake til snittflaten har man et mål på tensjonen. Canny mente at plantene har et vevstrykk. En trykkprobe basert på å sette et mikrokapillar inn i treet har også gitt indikasjoner på tensjonen.

Energien til å drive vanntransporten i plantene kommer opprinnelig fra sola. Tørr luft får vann til å fordampe fra bladene. Den største gradienten i vannpotensial er mellom vannet i bladet og luften utenfor. Det skapes en tensjon i vannet i celleveggene i bladet som forplanter seg gjennom hele planten eller treet. Jo tørrere luften er desto større er transpirasjonen. Hvis vannfasen i en xylemcelle brister skjer det en implosjon hvor vann fordampes eksposivt inn i boblen som utvider seg, et fenomen kalt **kavitering**. Porene i veggen gjør at vanntransporten bare stopper opp i cellen som er rammet. Jo større diameter vannledningselementene har jo større er muligheten for at vannsøylene skal bryte og kavitere. Kavitering og danning av gassbobler skjer hvis innoverkreftene fra overflatespenningen er mindre enn tensjonen. Straks en gassboble dannes i vann under tensjon vil den ekspandere. Deretter vil innoverkreftene minske siden overflatespenningen minsker fordi overgangen luft til væske har mindre kurvatur, og det oppstår kavitering og embolisme. Kavitering skaper høyfrekvente akustiske sjokkbølger som kan høres med mikrofon og høyttaler når søylene brister. Kavitering bryter kontinuiteten i vannkolonnene og hindrer den tensjonsdrevete vanntransporten. Embolier gir økt resistanse og blokkerer transportveien. Kaviteringsbobler kommer ikke gjennom porene i poremembranen og sprer seg ikke til naboceller. Når tensjonen øker er det økt tendens til at luft skal trekkes ut av porer i xylemveggen (luftsiling). Den meste permeable delen i xylemet er poremembranen som hindrer luftbobler i å spre seg. Hvis det oppstår skader på vevet som gir luftfylte naboceller til xylemet eller ved bladavkastning så kan dette være et inngangssted for luft. Luftbobler kan også

dannes ved frost siden det er lav løselighet av gasser i is. Er det dannet en emboli vil transportveien gå utenom embolien. Det kan også skje reparasjon under tensjon. Filtrering av vann gjennom endodermis minsker muligheten for luftembolier.

Diameteren på vedrør varierer fra 5-300  $\mu\text{m}$ . Bartrær med bare trakeider, med transport hastighet ca. 1 m per time, har mindre sannsynlighet for å kavitere enn løvtrær. Ulempen med trange xylemceller er liten hydraulisk konduktanse. Blant løvtrærne er det ringporete trær som har størst diameter på vedrørselementene, og høyest hastigheten på transporten (4-40 meter i timen sammenlignet med spredtporete løvtrær (1-6 m per time). Størst diameter på vedrørselementene og størst transporthastighet. Lav resistanse (høy konduktanse) i xylem reduserer trykkgradienten som er nødvendig for å gi vannbevegelse. Hvis xylemtransporten er 4 millimeter per sekund og radius på xylemrøret er 40  $\mu\text{m}$  så blir trykket under ideelle forhold i følge Poiseuilles lov 0.02 MPa per meter. Hvis vann beveger seg fra celle til celle via diffusjon trengs 10 ganger så stor gradient. Minste trykkforskjell som kreves for å løfte vann 100 meter er  $0.02 \text{ Mpa/m} \cdot 100 \text{ m} = 2 \text{ MPa}$ . Irregulære innervegger, perforasjonsplater, friksjon, poreresistanse og gravitasjonsvekten av vannet utgjør ca. 1 MPa, slik at total trykkgradient for et 100 meter høyt tre er ca. 3 MPa.

Evnen flerårige busker og trær har til å motstå og reparere kavitering er med å bestemme geografisk utbredelse. Vannmolekylene kleber seg også til celleveggene. Bindingen av vann til celleveggene gjør at vannet ikke forsvinner rett ut i lufta. Kommer det luft inn i rørene som frakter vann er det umulig å oppnå undertrykk siden en gass alltid gir positivt trykk. Luft kan komme ut av vannløsningen og danne gassbobler i vedrør og trakeider. Dette kan skje når vanntapet fra bladene er ekstremt høyt eller om vinteren forårsaket av frost. Det er mindre sannsynlig at det skal danne seg luftbobler i trakeidene med liten diameter enn i de større vedrørene.

Trakeidene sørger derfor for den sikreste vanntransportveien selv om kapasiteten er mindre. Under vekstsesongen dannes det stadig nye vannfylte vedelementer som kan erstatte luftfylte ødelagte vedrør og trakeider. Vanntransporten kan også gå på tvers av stammen eller i en spiralform opp igjennom treet. Hastigheten for vanntransporten er i bartrær ca. 1 m per time. Hos løvtrær med ringporet ved er hastigheten 4-40 m per time og i arter med spredtporet ved 1-6 m per time.

Store vedrør gir nok vann til trekronen for bare ett år ad gangen og det må lages nye neste vår. Ved er et usedvanlig materiale. Vi kan bruke det til å bygge hus og båter og til å lage møbler og musikkinstrumenter. Denne veden har trærne brukt til å frakte vann og næringssalter fra jorda opp i treet. I urteaktige planter skjer denne transporten i xylemet (vedvevet) i ledningsstrengene.

$$\Psi_{px} = \Psi_j - \frac{g_{tot} \Delta w}{k}$$

$\Psi_{px}$  er trykkpotensialet i xylem.  $\Psi_j$  er vannpotensialet i jord.  $g_{tot}$  er bladkonduktansen

for vann ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).  $\Delta w$  er fuktighetsgradienten fra blad til luft ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ).  $k$  er hydraulisk konduktanse.

Det skjer kavitering hvis det ikke kan motstå den høye  $\Psi_{px}$ . ? Henger sammen med diameteren til porene.

$$\Psi_{px} = \frac{4\tau}{d}$$

Hvor  $\tau$  er overflatespenningen mellom xylem-vann ( $\text{Nm}^{-1}$ ) og  $d$  er diameteren til den største poren.

Vannfluksen ( $J$ ) er proporsjonal med gradienten i vannpotensial  $\Delta\Psi$  og konduktansen ( $L_p$ ).

$$J = L_p \Delta\Psi$$

Vannet i rota står i direkte kontakt med vannet utenfor via rothår, epidermis eller mykorrhizahyfer. Vannet inn i røttene kan følge **apoplast** uten å krysse membraner inn til **eksodermis** som ligger 1-3 celledag innenfor epidermis. Både eksodermis (hypodermis) og **endodermis** tvinger vannet inn i **symplast**. Vannet kan også følge symplast fra celle til celle via plasmodesmata, eller transmembrantransport over membraner. Endodermis og eksodermis er impregnert med korkstoff (suberin), i endodermis kalt **Casparysk bånd**. Dette hydrofobe båndet gjør at vannet ikke lenger kan følge cellevegger og intercellularrom. Vann krysser endodermis via symplast. Det kan imidlertid finnes egne gjennomgangsceller uten Casparysk bånd i eksodermis og endodermis.

Vann kan bevege seg gjennom membranene i vannkanaler kalt **akvaporiner** laget av membranproteiner. Disse vannkanalene gjør at vanntransporten går lettere gjennom membranen, sammenlignet med diffusjon. Rothydraulisk konduktanse reduseres hvis det er færre akvaporiner. Akvaporiner reguleres av intracellulær pH, og lukkes ved tørke via defosforylering av serin. Dette forklarer effekten respirasjon har på vanntransporten, fordi både oversvømt jord, lav temperatur og cyanid som hemmer respirasjon gir mindre vannopptak og vanntransport. Redusert respirasjon gir økt pH.

Alle levende celler har et hydrostatisk trykk (turgortrykk). Drivkraften i osmose er en vannpotensialgradient over en semipermeabel membran. For at røttene skal kunne ta opp vann må vannpotensialet i rotcellene være lavere enn i jorda. Kaktus som vokser i knusktørre områder blir vannpotensialet i jorda lavere enn i røttene, og en strategi kaktus har er å kvitte seg de minste røttene, og erstatter dem med grunne regnrøtter hvis det kommer nedbør. Det er gjort forsøk med å spinne en kvist og bruke sentrifugalkrefter til å skape tensjon jfr. Holbrook.

Kohesjonsteorien har bestått i over 100 år, selv om den er stadig utfordret. Vann under tensjon er fysisk metastabilt. Hvis det hydrostatiske trykket er lik vandamptrykket så vil vann koke. Vann koker derved ved vakuum hvor det hydrostatiske trykket er lavt. Trykkgradienten på 3 MPa i et 100 meter høyt tre, dvs. - 0.3 MPa på toppen av treet er lavere enn metningsvandamptrykket (0.002 MPa ved



20°C). Hvorfor koker ikke vannet på toppen av et 100 meter høyt tre ?. Jo fordi aktiveringsenergien for overgang væske til gass er meget høy. Strukturen til xylem reduserer nærværet av nukleringssteder som gir denne aktiveringsenergien.

$\Delta V/V$  er relativt cellevolum og fastheten eller elastisiteten ( $\epsilon$ ) i celleveggen er gitt ved:

$$\epsilon = \frac{\Delta \Psi_p}{\text{relativt cellevolum}}$$

Elastisiteten  $\epsilon$  er ikke konstant, men minsker når turgortrykket blir mindre. En stiv cellevegg har høy  $\epsilon$ . Stigningen på trykspotensialkurven i et Höfler-diagram blir et mål på  $\epsilon$ . Bevegelsen av vann over membranen stopp når det ytre og indre vannpotensialet konvergerer mot 0.

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0.693}{A} \cdot L_p \left( \frac{V}{\epsilon - \Psi_s} \right)$$

Hvor  $V$  er volum av cellen,  $A$  er areal av cellen,  $L_p$  er hydraulisk konduktivitet over cellemembranen og sier noe om hvor lett vann kommer over membranen ( $\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ )

Kort  $t_{1/2}$  gir rask likevekt. Celler med høyt ratio overflate/volum, høy  $L_p$ , samt stiv cellevegg (høy  $\epsilon$ ) vil komme raskt i likevekt med omgivelsene. Celler har  $t_{1/2} = \text{ca. } 1\text{-}10$  sekunder slik at en celle kommer i likevekt med omgivelsene på under ett minutt.

Vann kan lagres i stamme og stengel eller blad. Vannlagring i stamme kan hindrer vintertørke hos flerårige. Saguarakaktus (*Carnegia gigantea*) kan holde på store mengder vann. Kaktus har et ytre fotosyntetiserende lag rundt et indre vannlagrende vev. Ved tørke og vanntap tapes vann fra de indre cellene selv om vannpotensialet i de indre vannlagrende og ytre fotosyntetiserende cellene er omtrent likt.

Vannlagrende celler er mer fleksible, er større celler med tynn vegg og har lavere  $\epsilon$  enn fotosyntetiserende celler. Dessuten senkes konsentrasjonen av oppløst stoff fordi stivelse omdannes til sukker. Forsøk på å presse bladene av bitter bergknapp (*Sedum acre*). Bladene til *Peperomia* kan ha en flerlaget hypodermis som kan lagre vann (hydrenkym).

Stressavslapning i veggen forårsaket av ekspansiner som løser opp celleveggstrukturen drives vannopptak og vekst av celler. Turgortrykket i celler er i størrelsesorden 0.3 til 1 MPa. Vannopptaket i cellene er:

$$\text{Vannopptak} = \frac{\Delta V}{\Delta t} = A \cdot L_p (\Psi_u - \Psi_i) \quad \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$$

hvor  $A$  er areal,  $L_p$  er permeabilitet til plasmamembranen,  $V$  er volummengde,  $t$  er tid, og  $\Delta \Psi$  er forskjellen i vannpotensial på utsiden og innsiden av cellen.

## Vann fra blad til atmosfære

I jord og xylem beveger vann seg som massestrøm som resultat av en trykkgradient. I vanddampfase diffunderer vann til utsiden av bladene hvor konveksjon og relativ

fuktighet blir viktigst. Vannpotensialet minsker fra jord til blad, men de forskjellige komponentene i vannpotensialet er forskjellige i transportveien. Vann kommer ut gjennom bladenes spalteåpninger (stomata) via diffusjon. En voksdekket kutikula virker som en barriere som står for ca. 5% av vanntapet fordi den kutikulære vannkonduktansen er vanligvis lav. Vann går ut gjennom spalteåpningene langs en konsentrasjonsgradient i vandamptrykk. Sterk solinnstråling og dårlig vanntilgang kan gi temperaturøkning i bladet. Varme fra planten fjernes ved varmestrømning (konveksjon, sensibelt varmetap), fordampning av vann (latent varmetap) og utsendelse av langbølget infrarød varmestråling (Stefans lov). **Bowen ratio** er lik forholdet mellom konveksjon og fordampning. Ved god vanntilgang er Bowen ratio lavt. Er det lite vann er Bowen ratio høyt, som i kaktus. Høyt Bowen ratio indikerer vannsparing.

Drivkraften for vanntapet i blad er konsentrasjonsforskjellen i vandamp og forskjeller i temperatur mellom luft og blad. Blad er vanligvis varmere enn lufta om dagen. Vanntapet er regulert via stomataresistans og grenselagsresistans som er avhengig av vindhastighet og bladform. Hår (trikomer) på bladene kan bidra til **tykt grenselag** som reduserer transpirasjonen. Noen xeromorfe blad som krekling (*Empetrum nigrum*) har spalteåpningene inne i hulrom dannet av et hult blad. Andre strategier for å bremse vanntapet er nedsenkede spalteåpninger og området rundt spalteåpningene dekket av voks som på barnåler som gir tykkere grenselag. Ved høy vindhastighet (høy påtvunget konveksjon) er det stomataresistansen som regulerer vanntapet. Stomatakontroll kobler fotosyntese og transpirasjon. **Middagsdepresjon** er en nedgang i fotosyntesen midt på dagen fordi spalteåpningene lukker seg for å forhindre for stort vanntap. Konsentrasjonsgradienten for vanntap er ca. 50 ganger større enn drivkraften for innfluksen av CO<sub>2</sub>, siden konsentrasjonen av H<sub>2</sub>O er mye høyere enn CO<sub>2</sub> (0.038%).

CO<sub>2</sub> diffunderer ca. 1.6 ganger saktere enn H<sub>2</sub>O.

Tofrøbladete blad kan delvis klappe sammen pga. uttørkingen. Gras kan rulle sammen bladet styrt av store tynnveggede **bulliforme celler** i epidermis. Det er bladbevegelser hos bønner (*Phaseolus vulgaris*) hvor bladene stiller seg vertikalt ved høy solinnstråling, styrt av turgortrykket i celler i pulvinus. Heliotropisme er blad er blomster som følger sola.

Planter trær og busker kan kaste av bladverk ved tørke. Noen planter har helt inntørket blad som kan gjenopprette turgor i løpet av en dag hvis det kommer nedbør

**Vannbrukseffektiviteten** sier noe om hvor mye biomasse som lages i forhold til vanntapet ved å produsere biomassen. Vannbrukseffektiviteten kan også relateres direkte til fotosyntesen. Der er ikke nødvendigvis direkte sammenheng mellom fotosyntese, vekst og biomasseproduksjon idet respirasjonen kan variere. CAM-planter og C4-planter har generelt høyere fotosyntetisk vannbrukseffektivitet, enn C3-planter.

Frø fra tørkeplanter kan inneholde vannløselige spiringshemmende stoffer slik at de

bare spirer hvis det er rikelig nedbør.

## Overflatebeskyttelse

Kutikula og periderm reduserer vanntap ved transpirasjon, men er også en barriere og gir beskyttelse mot sopp, bakterier og insekter. Alle overflater mot atmosfæren er dekket av kutin og voks for å redusere vanntap. **Kutin** i kutikula er et tredimensjonalt makromolekyl, en polymer bestående av mange og lange hydroksyfettsyrer festet til hverandre i esterbinding. **Kutikula** er en flerlaget struktur som dekker den ytre celleveggen i epidermis. Øverst i kutikula er det voks, deretter følger et midtlag med kutin innleiret i voks, og nederst et lag med kutin og voks blandet med pektin, cellulose og hemicellulose i celleveggen. Kutikula kan også inneholde lipidpolymere med langkjedete hydrokarboner kalt kutan. **Suberin** finnes i den ytre celleveggen i underjordiske organer i tilknytning til korkcellene i periderm. Casparysk bånd i endodermis inneholder suberin. Og ved sårheling og bladarr dannes suberin. Suberin er hydroksy- og peoksyfettsyrer bundet i esterbinding. Suberin inneholder i tillegg dikarboksylysyrer og er mer langkjedet enn kutin, og kan inneholde fenolforbindelser.

**Voks** er i kontakt med både kutin og suberin. Voks er et mikrokrySTALLINSK tynt lag utenpå kutikula. Voks er en blanding av hydrofobe langkjedete alkaner og alkoholer bestående av 25-30 karbonatomer, samt langkjedete aldehyder, ketoner, estere og frie fettsyrer. Kutin, suberin og voks er hydrofobe. Voks i kutikula blir laget i epidermiscellene og passerer gjennom porer i celleveggen. Voks er krystallinsk i form av plater, staver eller rør og kan gi en blågrønn farge på overflaten av blad. Kutikula blir tykk når plantene vokser i tørt habitat og tynn når plantene vokser i vått habitat. Den hydrofobe overflaten gjør at vandrdåper triller av bladet, samtidig som overflaten blir vasket, en lotuseffekt jfr. lotusplanten (*Lotus japonicus*).

Spirende sopp sporer kan trenge seg mekanisk gjennom kutikula eller ved å skille ut enzymet kutinase.

Carnauba er en voks som kommer fra tørkede blad av *Copernicia cerifera* og består av 80% voksesterer bl.a. C16-C20 fettsyrer i esterbinding med C30-C34 fettalkohol. Jojoba (*Simmondsia chinensis*) har flytende voksesterer i frøet, som ligner hvalolje og sebum, forskjellig fra vegetabiliske oljer.

Bivoks er voksesterer med 40-46 karbonatomer. Ullvoks (lanolin) inneholder voksesterer og sterolesterer.

## Moser

Moser er opportuniste som tåler godt uttørking og har liten intern vanntransport. De kan enten bryte ned klorofyll under uttørkingen, eller de kan opprettholde klorofyllinnholdet og strukturen i kloroplastene (poikiloklorofyll). Også noen høyere planter kan benytte denne strategien. Planter som tørker inn og beholder klorofyll og kloroplaste må beskytte seg mot fotooksidative skader. Det skje vanntransport kapilært ovenfra og nedover eller omvendt. Bladet er bare ett cellelag tykt og vannet kan gå rett inn i bladet. Mosene tørker derved også lettere ut, men mosematter reduserer vanntampet i forhold til enkeltindivider. % vanninnhold kan

være fra 100-600 % av tørrvekten. Moser er ektohydriske. Det er fellestrekk når det gjelder tilpasning hos moser og lav.

## Rottrykk og guttasjon

Vi kan observere smådråper med vann, **guttasjonsdråper**, som henger i spissen av blader fra gress og fra bladtennene hos marikåpe og jordbær, spesielt om morgenen etter en kald natt. Disse dråpene skyldes ikke dugg. Guttasjonsdråpene kommer igjennom spesielle strukturer i bladet kalt **hydatoder**, som egentlig er omdannede spalteåpninger. Nei, dråpen er presset ut av planten ved hjelp av **rottrykk** i et fenomen kalt **guttasjon**. At det ikke er rent vann som skilles ut ser vi når dråpen tørker inn. Da blir det liggende igjen et tynt saltbelegg. Hvis stengelen på en ung plante kuttet vil det i lang tid komme vann ut fra snittflaten. Guttasjon observerer man når den relative fuktigheten rundt planten blir høy og vannpotensialgradienten ut i lufta blir tilnærmet null. Røttene fortsetter imidlertid å ta opp mineralnæring, vann vil følge etter og skaper under denne situasjonen et positivt hydrostatisk trykk i trakeider og vedrørselementer. Røttene lager et positivt hydrostatisk trykk når ioner absorberes og konsentreres fra jordløsningen. Ioneopptaket gjør at det osmotiske potensialet blir lavere, og trykkpotensialet blir større enn 0. Oppløste stoffer som fraktes inn i xylemet gir et rottrykk 0.05 til 0.5 MPa. Hele rotvevet virker som en osmotisk membran.

Vannet kan ved rottrykk komme flere meter opp i plantene og har spesiell betydning for underskog i fuktig tropisk regnskog, planter i veksthus og nedsenkede vannplanter med røtter festet til bunnen. Positivt trykk i xylemet om natten kan løse gassbobler og motvirke effekten av kavitering. Rottrykket kan ha en funksjon om natten i lianer og andre planter ved å reparere brutte vannsøyler i vide vedrør som er utsatt for kavitering.

Når transpirasjonen er høy tas vann inn i bladene og fordampes ut i atmosfæren så raskt at det ikke bygger seg opp noe rottrykk.

Om våren hos løvtrær oppstår en spesiell form for rottrykk når stivelse i parenkymceller i stamme, greiner og røtter omsettes til sukker. Under slike forhold vil sukkerblandingen også bevege seg i xylemet. Denne saftstigningen ("sevja stiger") kan også bidra med å reparere skader forårsaket av kavitering i løpet av vinteren (fryse- og tineindusert kavitering). Rottrykket kan delta i fylling av xylemceller med emboli og oppløsningen av luftbobler. I slike tilfeller kan man også snakke om et **stammetrykk**. Imidlertid mangler tilsynelatende noen planter rottrykk, f.eks. bartrærne. Det kan imidlertid skyldes at disse bare har trakeider i xylemet. Lianer har ofte liten diameter på en lang stengel med store vedrør. Bartrær har ikke rottrykk. Rottrykk kan frakte vann opp til en høyde på ca. 2 m. For planter i drivhus med høy relativ fuktighet kan rottrykk være en viktig transportform for mineralnæringen.

Det har knyttet seg overtro til guttasjonsdråper og andre vanndråper på blader. Sigrid Undset forteller i *Kransen* hvordan Kristin Lavransdatter samlet vanndråper fra marikåpe. Det skulle brukes til å helbrede søsterens rygg skadet av en tømmerstokk.

Duggen hadde større kraft når den ble samlet av en ren mø, var overtroen Sigrid Undset forteller om. Et gammelt tegn på kommende regnvær har vært når f.eks. en kala-plante i vinduskarmen får guttasjonsdråper fra dryppspissen på bladene. Dette kan jo ha noe for seg siden slike dråper kommer når luftfuktigheten er høy.

Luftfuktighet er eneste vannkilde for noen lav, moser, og epifytter. Duggdannelse ved lav nattetemperatur kan være et viktig vanntilskudd for planter i tørre strøk. Det er mulig å samle over 500 liter blødningsaft fra en bjerk, 60 liter på et døgn. Hårbekledning på bladet med trikromer og eventuelt spalteåpninger som er nedsenket i hulrom i forhold til overflaten øker tykkelen på grenselaget. Dette gir en mindre vannpotensialgradient ut i lufta og derved lavere transpirasjon. Ved tørke kan blad rulle seg sammen, og planter som krekling og røsslyng har spalteåpninger i hulrom dannet fra bladet.

## Vann i jord

I jord er vanligvis det osmotiske potensialet i størrelsesorden  $-0.02$  MPa. I jord med høy saltinnhold er det osmotiske potensialet  $-0.2$  MPa eller lavere. Sjøvann ved  $20^{\circ}\text{C}$  har osmotisk potensial  $-2.8$  MPa. I våt jord er trykkpotensialet lik 0. Når jorden tørker inn forsvinner vann først mellom partiklene og danner luft-vann menisker og vann med negativt hydrostatisk trykk. Vann har høy overflatespenning og vedhengskreftene (adhesjon) minsker overflaten mellom luft og vann. Vann bindes med adhesjon til jordpartiklene, og vannet mellom jordpartiklene har menisker.

Vannet under meniskene har negativt trykk med vannpotensial  $\Psi = -2\tau/r$  hvor  $\tau$  er overflatespenningen  $7.28 \cdot 10^{-8}$  MPa  $\text{m}^{-2}$  og  $r$  er radius på kurvaturen til menisken som vender mot luftrommet i jorda. Hvis meniskradius er  $1 \mu\text{m}$  blir tensjonen i jorda  $-0.15$  MPa. Vann i jord beveger seg ved **massetrøm** avhengig av trykkgradient og diffusjon av vanndamp. Vann følger trykkgradienten i jord, fra jord med høyt vanninnhold til jord med lavt vanninnhold. Det er også en massestrøm ned trykkgradienten mot røttene. Når røttene tar opp vann fra rotsonen blir tensjonen i rotsonen mer negativ. Vannstrømhastigheten er avhengig av størrelsen på trykkgradienten og hydraulisk konduktivitet i jorda. **Hydraulisk konduktivitet** er et mål på hvor lett vann beveger seg i jorda. Sandjord med store rom mellom jordpartiklene har stor hydraulisk konduktivitet og leirjord har liten hydraulisk konduktivitet. Når vanninnholdet og vannpotensialet i jorda minsker så synker hydraulisk konduktivitet fordi vann erstattes med luft. Luft gir færre kanaler mellom jordpartiklene og vannbevegelsen blir begrenset til periferien av kanalene.

Vann kommer lettest inn i røttene gjennom rothårssonen i spissen av unge røtter, hvor det er nær kontakt mellom overflaten av røttene og jorda via rothår fra epidermis. Siderøtter gir brudd i rotbarken (cortex) og sørger for vannopptak inn i eldre deler av hovedrota.

Tettheten av en bestand kan beskrives av **bladarealindeksen** (LAI- "leaf area index"). LAI angir antall kvadratmeterblad projisert ned per kvadratmeter bakkeareal. LAI er 7 betyr  $7 \text{ m}^2$  blad per  $1 \text{ m}^2$  jord. For åkervekster optimalt med 3-6, men avhenger av art lysfluks, bladform, bladvinkel. Ved høy LAI blir innbyrdes skygging et problem.

Hvis vi antar at gjennomsnitte transpirasjonen fra et blad gjennom døgnet er ca.  $2 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  vil dette gi  $2 \cdot 3600 \cdot 24 \text{ mmol m}^{-2} \text{ døgn}^{-1} = 172.8 \text{ mol m}^{-2} \text{ døgn}^{-1} = 172.8 \cdot 18 \text{ g m}^{-2} \text{ døgn}^{-1} = 3.11 \text{ L m}^{-2} \text{ døgn}^{-1}$ . For et tre med bladarealindeks LAI=7 vil dette tilsvare  $21.8 \text{ L m}^{-2} \text{ døgn}^{-1}$ . Hvis vi antar et større bjerketre dekker en grunnflate på 4x4 meter vil dette si ca. 350 liter vann transpireres per døgn.

## Almesyke og visnesyke

Almesyke er en visnesyke som skyldes sekksporesoppen *Ophiostoma ulmi*. Soppen kan komme inn i sår gjennom barken eller bli spredd med barkbiller. Soppmycelet brer seg i treet og skiller ut stoffer som gir visning og tyller, utposninger fra parenkymceller inn i vedvevet blokkerer for vanntransporten. Døde almetrær står barkløse igjen med grå stammer. Andre visnesyker skyldes sopp som skiller ut stoffer som ødelegger lukkingsmekanismen for spalteåpningene slik at de står oppe hele tiden. F.eks. fusicoccin fra soppen *Fusicoccum amygdali* som infekterer mandel- og ferskentrær. Fusicoccin aktiverer  $\text{H}^+$ -ATPase i plasmamembranen i lukkecellene og andre celler, og opprettholder derved turgortrykket ilukkecellene slik at spalteåpningene blir stående irreversibelt åpne. Reseptoren som binder fusicoccin hører med til signaloverføringsproteiner i 14-3-3 familien, proteindimere som binder seg til andre proteiner.

## Litteratur:

Dixon, H.H.: Transpiration and the ascent of sap in plants. Macmillian 1914.

Hoolbrook, N.M., Burns, M.J. & Field, C.B.: Negative xylem pressures in plants: A test of the balancing-pressure technique. Science 270 (1995) 1193-1194.

Scholander, P.F., Bradstreet, E.D. & Hemmingsen, E.A.: Sap pressures in vascular plants Science 148 (1965) 339-346.

Zimmermann, U., Meinzer, F.C., Benkert, R., Shu, J.J., Schneider, H., Goldstein, G., Kuchenbrod, E. & Haase, A.: Xylem water transport: Is the available evidence consistent with the cohesion theory? Plant Cell Environ. 17 (1994) 1169-1181.

Darwin, F.: Observations on stomata. Phil. Trans. Royal Soc., ser B 190 (1898) 531-621.

## Floemtransport (translokasjon): fra kilde til brukssted

En utfordring for plantene som koloniserte land er å ta opp og holde på vann. Selektivt press ga under evolusjonen utvikling av skudd og røtter. Røtter forankrer planten og tar opp vann og mineraler. Blad absorberer lys, sørger for gassutveksling

og lager fotosynteseprodukter. Atskilte røtter og skudd ga behov for et transportsystem for langdistansetransport mellom dem. Plantene har to hovedsystemer for langdistansetransport, xylem (vedvev) og floem (silvev), som ligger ved siden av hverandre i ledningsstrenger. En **ledningsstrengslire** er en skjede med en til to celler med parenkymceller som ligger rundt små ledningsstrenger i blad og i primære ledningsstrenger i stengel. Stoffet som er fraktet via xylem kan modifiseres og/eller videretransporteres i floem. Bladene med kloroplaster samt lagringsorganer i eksportfasen er kilden til fotosynteseprodukter. Fotosynteseprodukter fra ferdig utviklede (adulte) blad fraktes til vekst- og lagringsområder. Floemsaften inneholder vann med oppløste aminosyrer, organiske syrer (glutamin, asparagin), ioner, RNA (mRNA og små RNA), protein, sekundærmetabolitter, hormoner, og 0.3-0.9 M sukrose, et ikke-reduserende sukker. Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), jern ( $\text{Fe}^{2+}$ ), nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) og sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) er lite mobilt i floem. FT-protein som er et protein som deltar i induksjon av blomstring fraktes i floemet fra bladene til det apikale meristemmet. I utviklingen og vekst av blad er det en overgang fra sink til kildeblad. Eksporten av fotosynteseprodukter ut av bladet til andre deler av planten starter fra spissen av bladet og sprer seg seinere mot basis av bladet som skifter fra import til eksport. Innlastingen skjer via hovedledningsstrengene og eksporten via de tynne ledningsstrengene. Masseoverføringsraten er fra 1-15 g per  $\text{cm}^{-2}$  silvev og time. Hos toårige planter er det lagring av fotosynteseprodukter i rota første året, og andre år er lagringsrota en kilde. Bruksstedet (sink) for fotosynteseprodukter og signalstoffer er ikke-fotosyntetiserende organer som blomst, frukt, frø, rot og unge (juvenile) blad i aktiv vekst som ikke er selvforsynt. Avhengig av utviklingsstadium kan rota virke som sink i det vegetative stadiet, mens frukten er sink i den reproduktive fasen. Sinkstyrken er avhengig av størrelse av aktivitet til planteorganet. Hos toårige planter vil rota hvor fotosynteseproduktene blir lagret være et brukssted det første året, men året etter blir rota en kilde. Unge blad kan være både kilde og brukssted. Nærhet til kilden er viktig, og bestemte kilder fører fram til bestemte sink. De nederste bladene på planten transporterer derfor mest fotosynteseprodukter til rota. De øverste sender fotosynteseprodukter til skuddspissen, samt til frukt og frø. Intermediære blader sender i begge retninger. Det øverste flaggbladet hos kornartene står for en vesentlig del av fyllingen av korn. Vanligvis går transportsystemet vertikalt slik at et blad er direkte vaskulært koblet med bladet over og under på samme ortostik. Antall internodier mellom blader på samme ortostik er artsavhengig. Tynning, såring og fjerning av greiner og blad kan endre det vanlige mønsteret for forbindelseslinjer og sammenkobling mellom kilde og brukssted opp eller ned i floemet. Fjerning av de nederste bladene kan tvinge de øverste bladene til å sende fotosynteseproduktene til røttene. Fjerning av de øverste bladene tvinger de nederste til å sende fotosynteseprodukter til det apikale meristemmet. Hvis det ikke er direkte kontakt mellom kilde og sink kan vaskulære interkoblinger gi alternative transportveier, dannelse av nettverk og forene tynne ledningsstrenger (anastomose).

Fotosynteseprodukter fraktes inn i de små ledningsstrengene i bladet, de store ledningsstrengene er bare for eksport. Blad skifter gradvis fra sink til kilde. Eksporten starter fra bladspissen og brer seg mot basis.

Det er konkurranse om å trekke på assimilater hvis det er flere brukssteder for fotosynteseprodukter. Det stedet som er størst og har mest aktiv metabolisme trekker



sterkest på ressursene. Hvis det er et sterkt behov for fotosynteseprodukter virker dette aktiverende på fotosyntesen, mens lagring av stivelse kan virke hemmende på fotosyntesen. En annen faktor som kan redusere fotosyntesen er liten tilgang på fosfat. Dessuten kan høye konsentrasjoner med sukker redusere transkripsjonen av gener som deltar i fotosyntesen. Sukker gir økt turgortrykk i cellene som kan gi innvirkning på fotosyntesen.

## Transportveien i silvev

I 1675 ringbarket italieneren Marcello Malpighi trær ved å fjerne barken i en ring rundt stammen. Samme forsøket ble gjort av Stephen Hales i 1727. De fant at barken svulmet opp over ringbarkingsstedet og skrumpet inn under. Selv om treet til slutt døde vokste skuddet en viss tid etterpå. Dette forsøket viste at sukker og andre fotosynteseprodukter fra bladene som er nødvendig for veksten fraktes i den indre delen av barken. Det ble seinere også vist at **ringbarking** ikke hadde noen umiddelbar effekt på transpirasjonen. På slutten av 1940-tallet viste bruk av radioaktive isotoper og autoradiografi at sukkertransporten fra fotosyntesen skjedde i silrør og silceller.

Fotosynteseprodukter transporteres i silrørene til delene av planten som er i aktiv vekst. Floemtransporten skjer i **silrør**, dannet fra **silrørselementer**, som ligger inntil **følgeceller** hos angiospermene, eller i **silceller** som ligger inntil **albuminøse celler** som fungerer som følgeceller hos bartrær (gymnospermer). Silrørselementer minster under utviklingen cellekjerne, tonoplast, mikrofilamenter, mikrotubuli, mitokondrier, plastider, Golgi og ribosomer, men beholder modifiserte mitokondrier, plastider og glatt ER. Silrørselementene har cellevegg uten lignin, men veggen kan være tykk. Følgecellene er viktige for innlasting og transport av fotosynteseprodukter fra mesofyll til silrør i de tynneste bladnervene, men de har også metabolske funksjoner som er mistet i silrørene bl.a. evne til proteinsyntese hvor også mRNA kan fraktes i floem. Mellom silrørselementene er det **silplater** i endeveggene, og i de laterale sideveggene er det **silområder** med porer (diameter 1-15 µm). Silområdene hos gymnospermer er like, og porene til to naboceller møtes i hulrom i midten av veggen, hvor glatt ER dekker silområdene og går gjennom silporene. Det er plasmodesmata i endeveggene som utvides til silplater. Silceller hos gymnospermer mangler silplater og alle silområdene er like, men hvor silområdene er blokkert av en membran.

Silvev (floem) kan også brukes som transportsystem for intern refordeling av vann, grunnstoffer og organiske forbindelser i planten. Sukkertransporten i floemet skjer i form av **sukrose** (rørsukker), i motsetning til dyr som bruker glukose. Sukrose er et ikke-reducerende disakkarid satt sammen av reducerende fruktsukker (fruktose) og druesukker (glukose). Sukrose er den formen av sukker vi bruker i husholdningen. Ved siden av hvert silrørselement ligger det en eller flere **følgeceller** og disse er i større eller mindre grad forbundet med **plasmodesmata**.

I silrørene er det floemprotein (**P-protein**) som danner granulære og krystallinske rør og fibriller. I umodne celler er P-protein som kuleformete legemer eller spiraler, som omdannes til tubulært og fibrillært P-protein i adulte celler. I agurk (*Cucurbita*) finnes floemfilamentprotein PP1 og floemlektin PP2. PP1 Og PP2 lages i følgecellene og fraktes inn via plasmodesmata til silrørene hvor de danner P-protein filamenter eller proteinlegemer. PP1 ligner cystein protease inhibitor og kan ha en funksjon i forsvar. P-protein finnes ikke hos gymnospermene. Hos angiospermene vil P-protein og kалlose forsegle og tette skadete silrør. Erteplanter har silrør med store krystalloide proteinlegemer, men ved skade sprer de seg og blokkerer silrøret. Prosessen er reversibel og kontrolleres av kalsium.

Langtidsforsegling av silrør skjer med **kallose** ( $\beta$ -1,3-glukan) som lages av enzymet kallose syntase på plasmamembranen. Kallose avsettes mellom plasmamembranen og cellevegg. Kallose lages i silrørselementene ved stress, skade (såringsskallose) og hvile. Kallose kan fjernes katalysert av enzymet kallase. Silrørene inneholder protein og tynne lag av cytoplasma som går igjennom silporene. Hvis et silrørselement skades vil sukkerløsning renne ut på grunn av det høye turgortrykket. Derfor blir hullet tettet umiddelbart med floemprotein og på lenger sikt med kallose. Floemprotein kan tette porene i silrørene og koagulere når det utsettes for luft. Floemprotein finnes i mange forskjellige former avhengig av plantart og alder til silvevet.

Kallose kan swelle og være med å fylle porene hvis det skjer en lekkasje. Kallose kan også dannes om høsten før trær går inn i hvile, og om våren brytes kallose ned katalysert av kallase.

Hvert silrørselement står i kontakt med en eller flere følgeceller via plasmodesmata. Deling av en morcelle gir et silrørselement og en følgecelle. Plasmodesmata er greinet og komplekse i overgangen mellom følgecelle og silrørselement.

Det er tre hovedtyper følgeceller: Ordinære (vanlige) følgeceller, transferceller (overføringsceller) og intermediære celler:

**Vanlige følgeceller** (ordinære følgeceller) har kloroplaster med thylakoider og cellevegg med glatt indre overflate. Det er relativt få plasmodesmata mot andre celler, unntatt silrørselementene. Symplast i silrørselement og følgecelle er omtrent helt symplastisk isolert fra omkringliggende celler.

**Transferceller** (overføringsceller) ligner vanlige følgeceller. De har fingerlike innvekster fra celleveggen, spesielt på veggen vekk fra silrørselementet, noe som gir økt overflate av plasmamembranen med økt transportkapasitet. Transfercellene er symplastisk isolert fra omgivelsene med bare noen på plasmodesmata. Både vanlige celler og transferceller antas å ta opp stoffer fra apoplast fordi det er få cytoplasmaforbindelser (få plasmodesmata). Noen plasmodesmata har ukjent funksjon. Parenkymceller i xylem kan bli modifisert til transferceller og hente stoff fra xylem.

**Intermediære følgeceller** har mange plasmodesmata og tar opp stoffer via cytoplasmaforbindelser mellom cellene. Intermediære følgeceller har mange små vakuoler, plastidene er lite utviklet og mangler stivelseskorn. Hvis det er rikelig med plasmodesmata mellom silrør og følgeceller kan sukkertransporten skje i symplasten,

kalt **symplastinnlastere/utlastere**. Dette forutsetter imidlertid av sukrose innfanges i silrørene i form av andre sukker f.eks. raffinose, stachyose eller verbascose (polymerinnfangningsmodellen) . Symplastinn/utlastere dominerer i tropiske strøk, noe som bl.a. skyldes lav løselighet av raffinose ved lav temperatur. Passiv symplastinnlasting er vanlig i trær. Planter med vanlige følgeceller og transferceller er **apoplastinnlastere/utlastere** har få plasmodesmata mellom følgeceller og silrør, og er mer utbredt i tempererte og kjølige områder. Symplastinnlastere er evolusjonært mest opprinnelige, apoplastinnlastere er avledet. Praktspragle (*Coleus*) har både symplast- og apoplastinnlasting. Sukrose må først fraktes ut i celleveggen via **sukrose-H<sup>+</sup> kotransport**. Membranen har utbuktninger i **overføringscellene/følgecellene** som frakter sukrose fra mesofyll inn i silrørene. Under evolusjonen ser det ut til å ha blitt færre plasmodesmataforbindelser og i grasfamilien er det vesentlig apoplastinn/utlastere. Et ferdig utviklet silrørselement mangler cellekjerne, og derfor har følgecellene en viktig funksjon i proteinsyntese for proteiner som skal til ferdig utviklede silrør. Følgecellene inneholder mange mitokondrier og har aktiv syntese av ATP som er nødvendig for aktiv transport av sukker inn og ut av silrørene.

Under frøutviklingen er det nødvendig med apoplastinnlasting siden det ikke er noe symplastforbindelse mellom cellevevet i embryo og det maternale vevet. Symplastinnlasting dominerer i organer og vev som fungerer som sink.

## Trykkstrømsmodell for floemtransport

I mange år grublet plantefysiologene over mekanismen for transport av sukker i planten. De første studier av silrør i elektronmikroskop viste at porene i silplatene i endeveggen var tettet igjen med protein. Hvordan kunne transporten skje i rør som var tettet igjen i begge ender ? Det viste seg at silrørene allikevel ikke var tette. Porene i silplater og porefelter var åpne. Det hele skyldtes en feil som oppstod da prepareringen av plantematerialet ikke gikk raskt nok og silplatene ble tettet igjen med floemprotein. Silrør har høyt hydrostatisk trykk og ved punktering forsvinner turgortrykket og innholdet suges mot endene og silplatene. Flere teorier ble lansert som foreslo både aktive og passive mekanismer for transporten. Den teorien som gjelder i dag ble fremsatt av tyskeren Ernst Münck i 1926. Den kalles **trykkstrømshypotese** eller massestrømshypotese, som i dag er den mest rimelige forklaringen på floemtransporten i planter. Trykkstrømmen oppstår osmotisk ved at forskjeller i hydrostatisk trykk oppstår i gradienten mellom innlasting og utlasting av sukker. Sukker følger passivt med i en vannstrøm drevet av en trykkgradient. Trykkgradienten framkommer ved at sukrose lastes inn i silrør ved produksjonsstedet og lastes ut ved bruksstedet (sink). Høy konsentrasjon av sukrose gjør at vann følger etter inn i silrørene og driver sukkeret med seg. Trykkgradienten mellom kilde og sink (0.1-0.4 MPa) driver translokasjonen og gir trykkstrøm (massestrøm). Floemstrømmen er ikke osmose, siden det finnes ikke noen membran mellom silrørselementene. Imidlertid kan floemtransporten hos gymnospermer være annerledes hvor porene i silcellene er fylt med membraner forbundet med glatt ER. Trykkstrøm er en passiv mekanisme, og har lavt energikrav. Lav temperatur, lite oksygen (hypoksis eller anoksis), samt metabolske inhibitorer hemmer i relativt liten

grad floemtransporten. Det kreves imidlertid energi for å lage strukturen til transportsystemet, og ved ATP-drevet transport. Transporten er ikke drevet av sukkerkonsentrasjonen, og heller ikke av en vannpotensialgradient, men av trykkgradienten. Silplater gir økt resistanse og er med å opprettholder trykkgradienten. Trykkstrømshypotesen forutsetter at transport oppover og nedover i planten ikke kan skje i samme silrør. Det trengs ikke energi til selve transporten, bare ved inn- og utlastingen. Triosefosfat fra fotosyntesen fraktes ut i cytosol og omdannes til sukrose. Om natten kan det lages sukrose fra stivelse i kloroplastene. Det finnes forskjellige måter å få sukker fra kloroplastene til silrørene. Sukker kan bevege seg fra mesofyllcellene til silrørene enten via cellevegger (**apoplast**) eller via cytoplasma og **plasmodesmata (symplast)**, avhengig av planteart. Det skjer en utveksling av stoff mellom silrørselementene og nabocellene. I transportetappen i floemet er det få plasmodesmata mellom silrørselement/følgecelle og de omkringliggende parenkymcellene. Avhengig av art kan plantene deles inn i apoplastinnlastere og symplastinnlastere. Apoplastinnlastere tar opp sukrose effektivt fra apoplasten, og dette gjelder de fleste planter hvor hovedtransportformen er sukrose. Sukrose i apoplast blir ved kotransport aktivt lastet inn i følgecellene med en **sukrose-H<sup>+</sup> symporter** (SUT1,2 & 4). Enzymet H<sup>+</sup>-ATPase pumper protoner (H<sup>+</sup>) ut i celleveggen, og H<sup>+</sup> blir med sukrose tilbake inn i silrørene. Apoplastinnlastere kan deles i de som har overføringsceller med store indre overflater og de som har følgeceller uten spesielle invagineringer. Planter som frakter vesentlig sukrose i floemet bruker apoplastinnlasting, mens arter som bruker andre oligosakkarider i tillegg til sukrose bruker symplastinnlasting. Arter i agurkfamilien bruker raffinose oligosakkarider som transportform, og disse har mange plasmodesmata og sammenhengende cytoplasma fra mesofyll til silrør. På grunn av størrelsen vil ikke raffinose diffundere tilbake, og er derved fanget. Løvtrær er vanligvis symplastinnlastere, men alle planter kan frakte sukrose. Et problem ved hypotesen er at man laster inn sukrose mot en konsentrasjonsgradient, og en hypotese går ut på at sukrose kan fanges som oligosakkarider i følgecellene (polymerinnfangning). Raffinose, stachyose og verbascose er oligosakkarider med sukrose pluss henholdsvis 1,2 eller 3 molekyler galaktose. I tillegg kan det fraktes sukkeralkoholer som sorbitol, mannitol eller dulcitol. Rogn (*Sorbus aucuparia*) inneholder mye sorbitol sammen med sukrose i floemet. Ved utlastingsstedet skjer det kortdistansetransport av fotosynteseproduktene til mottaksceller med aktiv metabolisme og lagring. Utlastingen kan skje enten via symplast og plasmodesmata eller apoplast. Ved utlastingsstedet kan sukrose hydrolyseres i apoplast katalysert av enzymet **invertase**. Stedene i plantene som forbruker fotosynteseprodukter har høy aktivitet av sur invertase i apoplasten. Invertase hydrolyserer sukrose til heksosier. I sukkerrør er stenglen sink for sukrose. I unge blad er det høy aktivitet av enzymene sukrose syntase og sur invertase. I eldre blad synker aktiviteten av disse og aktiviteten av sukrose-P-syntase øker, et sukrose syntetiserende enzym. Sukrose syntase kan også bryte ned sukrose til UDP-glukose og fruktose. Gener for invertase og sukrose syntase uttrykkes i forskjellig grad i forskjellige vev og forholdet mellom disse enzymaktivitetene kan påvirke styrkegraden som et brukssted (sink) har til å trekke på fotoassimilater. Til frukt er det ofte mindre effektiv xylemtransport og frukten kan bli hydraulisk isolert. Rotnematoder laster ut sukker fra silvevet via en spesiell struktur kalt syncytium.

I sukkerbete og sukkør lages sukrose i vakuolene og man tenker seg at denne transporten gjøres av en sukrose-H<sup>+</sup>-antiport.

Siden angiospermer og gymnospermer har forskjellig anatomi i floemet kan det tenkes at floemtransporten også er forskjellig. Lianer er klatreparasitter som har generelt større diameter på silrørselementene, noe som gir mer effektiv sukkertransport. Lianer og andre klatreplanter behøver derfor ikke så store investeringer i en stor stamme og de kan klatre tilsvarende høyere, men her

## Rottrykk og løvtrær om våren

Om våren før bladene kommer på løvtrærne fraktes sukker og aminosyrer opp i stamme og greiner ved hjelp av rottrykk. Kuttet kvisten av et bjerketre om våren renner det fra sårflaten i flere dager. Dette hjelper også til å fjerne eventuelle luftbobler som er blitt dannet i veden i løpet av vinteren. Om våren under saftstigningen kan også sukker og aminosyrer fraktes i xylemet ved rottrykk. I denne korte tiden om våren vil det i trær som "blør" fraktes en tynn sukkerløsning ikke bare i silvevet, men også i vedvevet. I Nord-Amerika kan sukkerlønn (*Acer saccharinum*) gi opptil 4 liter sukkerløsning per dag. Når denne dampes inn gir den lønnesirup som er en stor delikatesse. Bladanleggene i knoppene trenger sukker for å vokse. Sukker kommer fra stivelse som er lagret i rota og i stammer og grener. Dette er tiden for å lage seljefjøter. Vekstlaget mellom barken og veden har nå myke celler slik at barken lett kan frigjøres fra veden.

## Bladlus og floemtransport

Bladlusene er ikke populære når de slår seg ned i hagen på frukttrær og blomster og i kornåkeren. De stikker sugesnabelen gjennom overhuden på et blad eller bladstilk. Leter seg fram til et silrør og punkterer dette, og setter tettingsmekanismen ut av drift. Væsken i silrørene står under trykk og overtrykket presser sukkerløsningen ut i bladlusa. Overskuddet av sukker som den ikke trenger kan bladlusa skille ut som "honningdugg". Dette kan f.eks. falle ned på gjenstander under treet eller plantene hvor det etterhvert vokser opp svartfarget sopp på sukkerblandingen. På unge blad slår bladlusene seg like gjerne ned på bladstilken. Unge ikke utvokste blad får tilført sukker fra blad i nærheten. Det blir da en konsentrert sukkertransport i stilken før det brer seg utover i bladet. Bladlus har vært brukt til å studere de stoffene plantene frakter i silrørene. Ved å kappe snabelen, noe som går med litt fingerferdighet, har man fått et lite rør som det kan piple silrørssaft ut av. pH i floemsaften er fra 7-8 og inneholder 15-25 % tørrstoff. Floemvæsken (floemsaft) innholder mest sukrose (0.3-0.9M), i tillegg til mineralnæringsstoffer, vitaminer, aminosyrer, organiske syrer, og hormoner. F.eks. aminosyrene glutamat, glutamin, aspartat og asparagin, organiske anioner som malat og citrat, mye kalium, i tillegg til fosfat, magnesium og svovel. Svovel finnes i redusert form som glutathion, methionin og cystein, men også som sulfat. Det er også høye konsentrasjoner av klorid. Med unntak av kalsium er konsentrasjonen av mineralnæringsstoffer høyere i floemet enn i xylemet. Det er

xylemet som må sørge for transporten av kalsium til de apikale meristemer. Xylem og floem samarbeider om å frakte uorganiske og organiske nitrogenforbindelser (allantoin, allantoinisyre, citrullin). Planter med nitrogenfikserende rotnoduler kan frakte organisk nitrogen i xylemet. Sukrose er et ikke-reducerende sukker. Glukose og fruktose er reducerende sukker med aldehyd- eller ketongruppe og fraktes ikke i floemet, bare i form av disakkardiet sukrose. I tillegg til sukrose finnes det andre sukker som kan fraktes i floemet i planter. Raffinose, stachyose og verbascose er bygget opp av sukrose med henholdsvis 1, 2 eller 3 galaktosemolekyler. Sukkeralkoholene mannitol og sorbitol er også vanlig forekommende. Sorbitol er vanlig i rosefamilien og i oljetrefamilien f.eks. ask transporteres stachyose og sukkeralkoholet mannitol. Manna fra mannaasken (*Fraxinus ornus*) inneholder spesielt mye mannitol. Det manna-regn som det fortelles om i bibelen er imidlertid noe annet. Det er rester av mannalav (*Lecanora esculenta*) som er ført med vinden. Ved aldri blir det høy konsentrasjon av nitrogen i floemet. Masseoverføringsfluksen i floem er ca.  $1-15 \text{ g time}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  silrør, og floemhastigheten er  $0.3-1.5 \text{ m time}^{-1}$ .

Bladlus tar ikke bare for seg av plantens sukkerreservoir. De kan gi galler på bladene. Bladlus er også aktivt med å spre virus fra plante til plante. Ved å gni maur med følehornene kan de få bladlusene til å skille ut honningdugg. Maurene gir sannsynligvis også en form for beskyttelse.

## Hva bestemmer høyden av trær ?

Hvorfor vokser ikke planter inn i himmelen ?

Det er en sammenheng mellom hvor høyt et tre blir og hvor raskt det vokser i høyde i ung alder. Vedproduksjonen er også høyest hos trær som blir høye, men hvorfor har samme art forskjellig høyde når de vokser forskjellige steder. Det er flere hypoteser.

1) **Modningshypotesen** sier at celledelingen i meristematisk vev i skuddspissen går saktere med alderen. Derimot er finrøtter og unge blad stadig unge, slik at hypotesen blir usikker. Dessuten reduseres fotosyntesekapasiteten med alderen.

2) **Respirasjonshypotesen** sier at når trær øker i størrelse blir det økt mengde ikke-fotosyntetiserende vev som bruker karbon i respirasjonen og det blir mindre karbon igjen til vekst. Fotosyntesen er proporsjonal med bladarealindeksen, slik at det avhenger av om treet vokser alene og kan utvikle mer bladverk eller om det står i en tett bestand hvor dette ikke er mulig.

3) **Næringsbegrensningshypotesen** sier at næring samles i den levende biomassen og etterhvert vil det bli mangel på næring. I næringsfattige områder blir det lavere fotosyntese og derved mindre fotosynteseprodukter til xylemdannelse.

4) **Hydraulisk begrensningshypotese**, som er den mest plausible, sier at konduktiviteten av vann i veden øker med tverrsnittet av veden, men minsker med høyden. Det må altså skapes en stadig større vannpotensialgradient fra jorda via

stammen til og den omkringliggende lufta. Ved større tensjon i vannet blir det større mulighet for kavitering (luftbobler i vannledende celler). For å hindre kavitering lukkes spalteåpningene og derved reduseres fotosyntesen. Den hydrauliske konduktansen blir minst i toppen av treet og i enden av lange greiner og dette kan forklare hvorfor toppen på et tre blir relativt flat.

## Søte stoffer fra planteriket

Søt smak er en av de 4 basissmakene bitter, salt, sur og søt. Honning er et søtt stoff og inneholder fruktose og glukose fra plantenes nektar, samt noe sukrose, vann og mineraler. Honning er kjent fra 7000 f.kr. Andre søte matvarer brukt av menneskene var fiken som kunne tørkes og presses til kaker (5000 f.kr.) og vindruer som kunne kokes til sirup. Sukrose er ikke bare et søtningsstoff, det er også mat og energikilde. Alexander den stores offiserer rapporterte ca. 325 f.kr. om det i India skulle være en plante (sukkerrør) som kunne lage honning uten hjelp av bier. Oppdagelsen av sukkerbeten er først skjedd i seinere tid. Sukkerlønn (*Acer saccharum*) i N-Amerika var en viktig kilde til sukrose og velkjent blant indianere.

Sukrose er ett av mange stoffer som smaker søtt og kalles sukker. Sukrose, ofte kalt bordsukker, kommer fra sukkerrør og sukkerbete. Sukrose består av glukose (druesukker) og fruktose (fruktsukker) bundet sammen. Bindingen brytes lett av bl.a. og invertase og resultatet blir invertsukker med 50% glukose og 50% fruktose. Se utenpå varedeklarasjonen hos visse typer sjokolade og se at de inneholder invertase. Navnet invertsukker kommer fra hvordan sukker dreier lys.

Sukker fra sukkerrør og sukkerbete kan atskilles på  $\delta^{13}$ -forhold og urenheterne som følger med. Betsukker kan ha en bitter undertone fra saponiner.

Fruktose forekommer ofte i frukt og er søtere enn glukose.

Stivelse er polymerisert glukose. Maltose (maltsukker) er et disakkarid fra stivelse dannet ved enzymatisk spaltning. Maltose er den viktigste komponenten i maltekstrakt og utgjør 40% av totalt karbohydrat. Maltose er i seg selv lite søtt. Høyfruktosesirup er sukkerblanding med høyt innhold av fruktose fremstilt fra stivelse industrielt ved hjelp av enzymer (amylase, glukoamylase og glukose isomerase).

Sukkeralkoholer (polyoler) som smaker søtt er sorbitol, mannitol og xylitol. Sorbitol er et sukkeralkohol spesielt i frukt fra rosefamilien. Xylitol er det søteste sukkeralkoholet vi har. Sorbitol er brukt som søtningsmiddel bl.a. i tyggegummi. D-mannitol finnes også i persille og selleri. Andre stoffer med søt smak fra planteriket er ammonifisert glycyrrhizin, thaumatin (*Thaumatococcus danielli*), steviosid (*Stevia rebaudiana* som vokser i Paraguay) og phyllodulcin.

Glycyrrhizin fra *Glycyrrhiza glabra* gir lakrissmak. Lakrisplanten ble studert av Robiquet i 1809. Lakrissmaken fra sisselrot (*Polypodium vulgare*) skyldes osladin. I tillegg til stivelse finnes polymerisert sukker i inulin fra georgineknoller (*Dahlia*). Fruktaner er sammensatt av fruktose og finnes spesielt hos gress.



## Mineralnæring

*"Han var her med ein potteblom, eit lite fint ungt tre; det hev alt knuppar og sprett snart. "Dette," segjer han, "hev eg tigga meg til; og du skal ha det til å sjå på no, då det tek til å vårast. Men du skal sjå vel på det. Veit du kva mystik er ? Når du ser på slik ein blom, og ser at han veks, so ser du det mystiske. Ser du ? I den vesle potta er der ein neve svart jord. Av den neven svart jord lagar denne vokstren det du her ser: Rot, legg, grein, kvist; so blad og knupp; so blomar og frukti. Men alt ihop og kvar serskild ting so forunderleg gjennomtenkt og gjennomført. Alt ihop og kvar serskild ting i formir so fine, at ingin kunstnar kunde finne på slikt, og med litir so utsøkte, at våre største målarar med all sin teknik og alle sine fargar ikkje kan gjera det etter. Alt dette fær slik ein vokstr fram av ein neve svart mold. Or den moldklumpen reint ut strøymar det fram med formir og fargar og utenkt fagerdom. Det er som blomen hadde røtane sine i æveheimen, inne i Guds skapardraum; soleis vell det og strøymar med liv og venleik. Og dette er ikkje noko som hev hotta til og hendt ein gong i verdi av eit horve høve. Og ikkje berre denne vokstren hev slumpa til å få slik ei løyndoms kraft. Kvart år hender det; og millionar vokstrar kann kunsten. Og kvar hev sin måte; kvar hev sine litir og lag, alle gjennomtenkte med den finaste kunst, og alle gjennomførde og fasthaldne so klårt og so strengt, liksom kvar vokstr hadde teikningar å gå etter. Men aldri tvo likt. Ja sjå på dette; og tenk deg inn i det avgrunns djup av gåte som opnar seg berre i slik ein litin blom. Og høyr etter, um denne blomen ikkje skulde ha noko å segja deg!".* Fra Arne Garborg: Den burtkomne Faderen

Garborg var her inspirert av Aristoteles tanker om at plantene kom fra jorda, "Jorda er plantenes mage". Van Helmonts eksperiment påpekte betydningen av vann, men seinere kom oppdagelsen av den fundamentale betydningen av CO<sub>2</sub>.

Den gunstige effekten aske, møkk, kalk eller døde planterester har på planteveksten har vært kjent i over 2000 år. Det var Justus von Liebig (1803-1873) som samlet og systematiserte kunnskapen om grunnstoffene og deres effekt på planteveksten. Planter tar også opp grunnstoffer (elementer) som de ikke trenger og som i tillegg kan være giftige, slik at opptak av grunnstoffer er ikke noe kriterium for at plantene virkelig trenger dem i metabolismen.

Mineralnæring vil si hvordan plantene tar opp og bruker mineralnæringsstoffer. Mineralnæringsstoffene er uorganiske ioner fra grunnstoffer som sirkuleres i biosfæren via plantene. Et effektivt og intensivt jordbruk er avhengig av riktige mengder med mineralnæring. Landbruksplanter bruker ca. halvparten av tilført gjødsel. Resten lekker ut til overflatevann og grunnvann, bidrar til eutrofiering og gir høye konsentrasjoner av nitrat i drikkevann. Karbon (C), hydrogen (H) og oksygen (O) får plantene fra karbondioksid i lufta og vann i jorda. Resten av grunnstoffene tas opp som ioner (anioner og kationer) fra jorda.

Nødvendig (essensielt) grunnstoff er et:

- 1) som planten trenger for å fullføre livssyklus.
- 2) hvor funksjonen til et grunnstoff ikke kan erstattes av et annet grunnstoff.
- 3) hvor grunnstoffet må delta aktivt i plantens metabolisme med en klar fysiologisk rolle som en del av et kjemisk stoff, enzym, enzymreaksjon, i en struktur eller i et metabolsk trinn. Mangel på et nødvendig grunnstoff gir en abnormitet i vekst, utvikling og reproduksjon.

Grunnstoffene kan ordnes i et periodisk system etter antall protoner i kjernen. Det første grunnstoffet er hydrogen med ett proton i kjernen. Det neste er helium med to protoner og to nøytroner i kjernen. Hvorfor er edelgassene så lite reaktive? Edelgassene har et stabilt antall elektroner i fylte elektronskall. De kjemiske egenskapene til grunnstoffene avhenger av antall elektroner som går rundt kjernen, slik at de enten kan avgi, motta eller dele elektroner med nærliggende atomer for å få en mest mulig stabil konfigurasjon. **Alkalimetallene** (hovedgruppe I) litium, natrium, kalium, rubidium, cesium og francium er karakterisert av ekstrem kjemisk reaksjon med andre stoffer fordi de så lett avgir sitt eneste elektron i ytterste elektronskall. De gir vekk et elektron til alle stoffer som trenger det og blir enverdige i ioneform. **Jordalkaliemetallene** (hovedgruppe II) magnesium, kalsium, strontium, barium og radium vil gjerne gi vekk to elektroner og blir toverdige i ioneform. Plantene tar opp grunnstoffer fra jorda i form av ioner. Plantene kan også ta opp ioner gjennom bladverket.

Grunnstoffer som planten ikke trenger, men f.eks. hindrer opptak av toksiske stoffer, påvirker osmotisk trykk (natrium hos saltplanter), eller gir epidermis ekstra styrkeegenskaper (silisium) kalles **nyttige grunnstoffer**. Aluminium er ikke essensielt, men planter kan inneholde fra 0.1-500 ppm aluminium. Planter som *Astragalus*, *Xylorhiza* og *Stanleya* som vokser på selenrik jord kan inneholde selen-aminosyrer (selenocystein og selenomethionin). Noen planter kan inneholde store mengder strontium.

Kunnskap om de essensielle grunnstoffene kommer fra **hydroponikk** hvor planter dyrkes med røtter i uorganiske næringsløsninger. Saussure, Sachs, Boussingault og Knop brukte næringsløsninger med uorganiske salter for å finne ut hvilke av dem plantene trengte. Det finnes mange typer hydroponikk-kultur hvor røttene må få tilgang til oksygen. Det kan være næringsfilmvekstsystem, aeroponikk hvor røttene i luft sprayes kontinuerlig med næringsløsning eller "flo-fjære" hydroponikk hvor vannstanden med næringsløsningen heves og senkes rundt røttene med jevne mellomrom. Hoagland utviklet næringsløsninger med høye, ikke-toksiske konsentrasjoner av grunnstoffer uten at de ga saltstress. Hoaglands næringsløsning har høyere konsentrasjon av ioner enn det som finnes i jord, men bufferer og gjør at man ikke må skifte næringsløsning så ofte. Som nitrogenkilde brukes både nitrat og ammonium slik at det ikke skjer for store pH-endringer i næringsløsningen.

Det er stor forskjell mellom konsentrasjon av næringsstoff i jorda og det planten trenger. Jorda kan inneholde grunnstoffer i så høye konsentrasjoner at det er for mye i forhold til hva planten trenger. Derfor må opptaket være selektivt. Noen grunnstoffer

tas opp aktivt, noen diskrimineres og holdes ute. Det er forskjeller mellom arter og genotyper når det gjelder ioneopptak fra jorda.

Grunnstoffene kan inndeles i makro- og mikronæringsstoffer etter relativ konsentrasjon i plantene, men forskjellene i konsentrasjon er ikke alltid like store:

1) **Makronæringsstoffer** som plantene trenger mye av (karbon, hydrogen, oksygen, nitrogen, fosfor, kalium, kalsium, svovel og magnesium).

2) **Mikronæringsstoffer** som plantene trenger mindre av (jern, klorid, kobber, mangan, zink, molybden, bor og nikkel).

Det er mye jern og mangan i blad, nesten likt med mengden svovel og magnesium. Noen grunnstoffer finnes i høyere konsentrasjon enn plantene trenger.

En annen inndeling av mineralnæringsstoffene er i **metaller** og **ikke-metaller**. Til metallene hører kalium, kalsium, magnesium, jern, mangan, zink, kobber, molybden og nikkel. Ikkemetaller er nitrogen, svovel, fosfor, bor og klorid.

## Grunnstoffer og funksjon

Grunnstoffene har som fysiologisk og biokjemisk funksjon i plantene og kan klassifiseres etter dette:

- 1) Inngå i alle organiske molekyler i metabolisme og strukturer (karbon, hydrogen, oksygen, nitrogen, svovel, fosfor).
- 2) Elektrontransportører i redoksreaksjoner i enzymer og proteiner (jern, kobber, zink, molybden, mangan).
- 3) Regulering av metabolisme og inngå i strukturer (kalsium).
- 4) Osmotisk viktige grunnstoffer (kalium, klorid).
- 5) Koenzymer, vitaminer og andre metallenzymmer (svovel, zink, magnesium).
- 6) Energimetabolisme (fosfor).
- 7) Deler av C-forbindelser hvor nitrogen og svovel assimileres via oksidasjon og reduksjon.
- 8) Signaloverføring (kalsium)
- 9) Membranpermeabilitet (kalsium og magnesium)
- 10) Energilagring og struktur som fosfor-, silisium- eller bor-estere bundet til hydroksylgrupper i organiske molekyler.

Nitrogen og svovel er en integrert del av proteiner. I de fleste enzymreaksjoner trengs en ikkeprotein komponent: koenzym eller prostetisk gruppe. Transisjonsmetallene i metallproteiner virker katalytisk ved å skifte valens. Noen danner enzymsubstrat-metallkomplekser. Ioner spiller rolle ved hydratisering, stabilitet og konformasjon av enzymer. Kalium er et element som har regulatoriske rolle i enzymer ved å endre konformasjonen til proteiner. Reversibel fosforylering av enzymer via protein kinaser og defosforylering er en viktig måte å regulere aktiviteten til mange enzymer. Flere av protein kinasene trenger kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

Kobolt er en del av cobolamin som inngår i vitamin  $\text{B}_{12}$  som er nødvendig for nitrogenfikserende prokaryoter i symbiose med planter.

Mineralmangel gir **mangelsymptomer** og forstyrrer metabolisme, fysiologiske funksjoner og forholdet mellom mineralstoffene. Eldste eller yngste deler av planten rammes av mangelsymptomer avhengig av mobilitet av ionet det er for lite av og refordeling via floem. Plantevirus kan gi symptomer som ligner på næringsmangel. Mobile ioner resirkuleres fra eldre til yngre deler av planten: N, P, Mg, P, Cl, Zn, Mo, og gir mangelsymptomer på eldre deler. Ca, S, Fe, B og Cu er immobile i planten og gir mangelsymptomer på de yngste delene av planten. Mangel på flere grunnstoffer kan skje samtidig. Overskudd av et grunnstoff kan indusere mangel eller overskudd av et annet grunnstoff. I sandjord kan det bli mangel på bor, kobber, zink, mangan, molybden og jern.

## pH og ioneopptak

Reaksjon mellom protoner, hydroksylioner, bikarbonat og andre kationer vil påvirke ioneopptaket. pH i jorda er sjelden over pH 7.5 slik at protonkonsentrasjonen vil ha stor betydning. Når den ytre protonkonsentrasjonen øker vil effluksen av protoner reduseres f.eks. kan et membranpotensial på -150 mV ved pH 6 bli redusert til -100 mV ved pH 4. Det er forskjell på uladete molekyler og ladete anioner og kationer når det gjelder å kunne komme gjennom biomembraner. Det betyr f.eks. at ioner som  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  tas lettere opp enn  $\text{HPO}_4^{2-}$  slik at dette opptaket blir pH avhengig. I sur jord bedres tilgangen på jern og mangan betydelig sammenlignet med mer basisk jord.

Det finnes to systemer for regulering av pH i plantene:

- 1) Protonutbytting over membraner ved ATPase, ATP syntase og antiporttransport. Membranbundete  $\text{H}^+$ ATPaser opprettholder elektrokjemiske protongradienter over membraner. Disse gradientene brukes til transport av ioner, sukrose, aminosyrer, osmoregulering, celledreking og kontroll av intra- og ekstracellulær pH.
- 2) Biokjemiske pH regulering via produksjon og bruk av protoner ved dannelse og fjerning av karboksylsyrer.

Det vesentlige av det selektive opptaket skjer i plasmamembranen. Den andre barrieren er tonoplasten.

Protonpumper i membranen regulerer pH i cytoplasma, men gir samtidig en elektrokjemisk gradient som kan brukes til å transportere andre stoffer: nøytrale, anioner og kationer.

I rothår er det beregnet at  $\text{H}^+$ ATPase bruker opptil 50 % av cellens ATP.  $\text{H}^+$ ATPase aktiveres også av  $\text{K}^+$ .  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase regulerer konsentrasjon av fritt  $\text{Ca}^{2+}$  i cytoplasma og holder den på submikromolarnivå.

Kationer kan transporteres i en nedoverbakkeprosess i en uniport av bærere (permeaser) eller ved kotransport.

For aniontransport kan man ha en proton-anion kotransport (symport) som bruker den elektrokjemiske gradienten som drivkraft. Fosfat kan tas opp av en  $\text{OH}^-$ -fosfat mottransport (antiport). Protonpumpene er fosfohydrolaser som enten bruker pyrofosfat eller ATP som energikilde. Disse trenger  $\text{Mg}^{2+}$ , noe som indikerer at MgATP eller MgPP er substrater. MgPP-ase trenger også  $\text{K}^+$ . Protonpumpen i

tonoplast sørger for høy pH i cytoplasma og lav pH i vakuolen, og transporterer kationer f.eks.  $K^+$  for å opprettholde det osmotiske trykket. Tonoplasten har ATPase og PPase, plasmamembranen har ATPase.

Stort opptak av kationer følges av økt pH i cytoplasma og induserer syntese av organiske syrer. Høyt opptak av anioner gir lavere pH i cytoplasma (proton-anion-kotransport). For å opprettholde høy pH i cytoplasma trengs økt dekarboksylering av organiske syrer fra f.eks. vakuolen. Likevekten mellom karboksylering ( $CO_2$ -fiksering) og dekarboksylering reguleres av pH avhengigheten for enzymene fosfoenolpyruvat karboksylase og malatenzym. En økning i pH aktiverer fosfoenolpyruvat karboksylase og ved hjelp av malat dehydrogenase lages malat som kan lagres i vakuolen hvor den virker som motion for kationer. Vi har funnet høye konsentrasjoner av malat i stengelen hos unge kimplanter av gran. Hvis pH i cytoplasma minsker blir malatenzym aktivert, noe som leder til dekarboksylering av malat og produksjon av  $CO_2$ . I planter som lager mye oksalsyre kan denne være med i pH reguleringen. Kalsium-oksalatkrystaller er vanlig i nålene hos bartrær, i celleveggene i mesofyll og floem og i ytterveggen av epidermis. Oksalsyre kan brukes til å fjerne overskudd av kalsium eller som antibeitestoff. Oksalsyre kan også brukes til å lage hydrogenperoksid som brukes til bekjempelse av sykdomsfremmkallende organismer.

Opptaket av ammonium og nitrat er det som har størst betydning for pH.

Surjordsplanter som foretrekker ammonium som nitrogenkilde har et høyt kation/anion forhold sammenlignet med planter som tar opp nitrat.

Ammoniumassimilasjon produserer protoner:  $3 NH_4^+$  assimilert gir  $3 RNH_2 + 4 H^+$ . Protonene kan skilles ut fra rota i bytte med ammonium hvis assimilasjonen skjer i rota. Assimilasjon av nitrat gir tilsvarende mengder hydroksylioner ( $OH^-$ ), eller sagt på en annen måte, nitrat tas opp sammen med  $H^+$ .  $3 NO_3^-$  gir  $3 RNH_2 + 2 OH^-$ . pH reguleringen blir enklest hvis plantene har tilgang til både nitrat og ammonium.

## Transportveien inn i rot og celler

Det er både passiv og aktiv transport av stoffer fra et sted i planten til et annet. Krefter som driver biologisk transport er konsentrasjon, hydrostatisk trykk, elektrisk felt og gravitasjon. Molekyler og ioner fraktes via membrantransport. Membrantransport skjer via kanalproteiner (passiv diffusjon), bærerprotein og pumper. Av de ca. 25.000 gener som finnes i *Arabidopsis* deltar ca. 7% av genomet i transportprosesser.

Fotosynteseprodukter bl.a. sukrose fraktes via floemtransport (translokasjon).

Mineralnæring tatt opp av røttene fraktes til skuddet med transpirasjonsstrømmen i xylemet. Ioneopptaket i røtter skjer via symplast og det ekstracellulære rom (apoplast). Ioner beveger seg passivt inn i stelen via symplast ned en elektrokjemisk potensialgradient, og lekker ut i levende celler i stele. Hovedbarrieren for ionefluksen i apoplasten i rota er **endodermis** med hydrofobe **Casparyske bånd**. Suberin i celleveggen i endodermis er en effektiv barriere for videre transport i apoplasten. Casparysk bånd hindrer tilbakediffusjon via apoplast. I de fleste planter finnes det et cellelag i rotbarken (cortex) i form av en hypodermis eller **eksodermis** som har suberin i veggene, og som fungerer som en barriere på lik linje med endodermis. Etter

radial transport inn til stelen vil ioner og organiske stoffer (aminosyrer, organiske syrer) fraktes inn i xylemet langs en elektrokjemisk gradient som er koblet til respiratoriske prosesser. Det er ting ved denne innlastingen i xylemet som fremdeles er ukjent, men xyleminnlastingen er regulert. Xylemparenkym deltar i xyleminnlastning. I xylemparenkym er det protonpumper, vannkanaler og ionekanaler for inn- og utflukt Steele utover  $K^+$  kanaler (SKOR) uttrykkes i pericykel og i xylemparenkym, og deltar i transport av kalium fra rot til skudd. Tørke, ABA og høy kalsiumkonsentrasjon i cytosol reduserer aktiviteten til SKOR og anionkanaler.

I motsetning til xylemet går transporten i floemet begge veier, opp og ned i planten. Når mineralnæringsstoffene har kommet inn i planten kan flere av dem reforderes i planten via floemet f.eks. nitrogen, fosfor og kalium, men jern og kalsium er eksempler på stoffer som ikke kan retranslokteres på denne måten. Det kan skje reabsorpsjon av mineralnærings langs transportveien oppover i planten over til parenkymceller, men mesteparten fraktes til bladene.

Bevegelsen av lavmolekylære stoffer, ioner, organiske syrer, aminosyrer og sukker fra den ytre løsning og inn i celleveggene i rotcellene, - det frie diffusjonsrom, skjer som en passiv ikkemetabolsk prosess. Celleveggen kan imidlertid reagere med stoffene og fremme eller hindre videre bevegelse innover i planten. I celleveggenes nettverk er det interfibrillære og intermicellære rom i størrelsesorden fra 3-5 nm, sammenlignet med hydrert kalium ( $K^+$ ) som har diameter ca. 0.66 nm og kalsium ( $Ca^{2+}$ ) med diameter ca. 0,82 nm. Høymolekylære stoffer som metallchelater, fulvinsyrer, og virus kommer ikke gjennom porene. I dette nettverket hvor det er mye pektin (polygalakturonsyre), spesielt i midtlamellen, blir det et kontinuerlig apoplasma hvor karboksylsyregrupper ( $RCOO^-$ ) virker som kationbyttere. Siden disse ladningene ikke representerer noe fritt diffusjonsrom kalles de **tilsynelatende fritt diffusjonsrom**. Dette består av et "waterfreespace" som er tilgjengelig for ioner og ladete og uladete molekyler, og "Donnan fri space" hvor det skjer anion- og kationbytte. Plantene varierer i evne til kationbyttekapasitet, det vil si hvor mange fast bundete anioner ( $RCOO^-$ ) det finnes i celleveggene. Kationbyttekapasiteten er noe høyere for tofrøbladete enn for enfrøbladete planter. Kationbyttekapasiteten minsker når den ytre pH i jorda blir surere. I membranene vil fosfo-, glyko- og sulfolipider, og proteiner inneholde elektriske ladninger som vil tiltrekke seg ioner med motsatt ladning. Ionekanaler er spesielle proteiner i membranene som gir stor innfluks av ioner som er 3-10 x raskere enn for bærerproteiner (permeaser). Makromolekyler kan tas opp i form av endocytose (pinocytose).

Transportproteinene i cellemembranene har en opptakskinetikk som ligner enzymkinetikk og man bruker ofte de tilsvarende. Siden transportproteinene ikke endrer substratet kan de ikke kalles enzymer. Spesielt for natrium ( $Na^+$ ) og kalsium ( $Ca^{2+}$ ) er det stor forskjell mellom beregnet konsentrasjon i cellen ut fra Nernst-ligningen og det som måles, noe som indikerer at begge disse blir aktivt transportert ut av cellene.

## Konkurransen om opptak

Den metabolske aktiviteten i røttene har betydning for opptaket slik at oksygentilgang



og mengde karbohydrater i røttene blir viktig. Det samme gjelder rottemperatur og konkurransen mellom grunnstoffer som har samme valens og ionediameter. Det er konkurranse mellom opptak av alkalikationene kalium ( $K^+$ ), rubidium ( $Rb^+$ ), og cesium ( $Cs^+$ ). Bindingen av cesium er relativt lav. Det betyr at kalium kan utkonkurrere cesium, men ikke omvendt. Det har betydning for opptak av radioaktivt  $^{137}Cs$  inn i planter hvor cesium utkonkurreres fra ioneopptak på dyrket mark med god kaliumgjødning, men ikke i næringsfattig utmark og i fjellområder. Derfor vil sauer på utmarksbeite inneholde radioaktivt cesium i minst 50 år etter Tsjernobylulykken i 1986.

Ammonium ( $NH_4^+$ ) kan hemme opptaket av kalium ( $K^+$ ), men ikke omvendt. Både kalium ( $K^+$ ) og kalsium ( $Ca^{2+}$ ) hemmer opptaket av magnesium ( $Mg^{2+}$ ). Det vil si sterk gjødning med kalium og kalking kan gi magnesiummangel. Mangan ( $Mn^{2+}$ ) kan hemme opptaket av  $Mg^{2+}$ . Det er også konkurranse i opptak mellom molybdat ( $MoO_4^{2-}$ ), sulfat ( $SO_4^{2-}$ ), selenat ( $SeO_4^{2-}$ ), og mellom fosfat ( $HPO_4^{2-}$ ) og arsenat ( $H_2AsO_4^{2-}$ ). Økt mengde sulfat hemmer opptaket av molybdat og selenat. Arsenat og fosfat tas opp av samme opptakssystem. Dette er av betydning hvis jorda inneholder mye molybden, arsen eller selen. Arsen kan komme fra trykkimpregnert treverk. I noen geografiske områder kan jorda inneholde mye selen. Selen inkorporeres istedet for svovel inn organiske forbindelser f.eks. aminosyrene selenomethionin, selenocystein. Det er også konkurranse mellom klorid og nitrat. Klorid innholdet kan reduseres i planter ved å tilføre mye nitrat. Omvendt kan man senke nitratinnholdet i planter som spinat ved å tilføre mye klorid. Ammonium vil ofte undertrykke opptaket av nitrat, men ikke omvendt. Opptak av ammonium vil gi redusert membranpotensial og vil derfor hemme nitratinfluks

Det vil være en konkurranse mellom  $H^+$  og aluminiumkomplekser og opptaket av andre elementer som f.eks. magnesium. ZnEDTA kan gi mindre zinkopptak enn hvis man har  $Zn^{2+}$

$Ca^{2+}$  tilførsel vil hindre at  $K^+$ opptaket reduseres ved lav pH.

Hos natriumfobe planter som bønner vil natrium ( $Na^+$ ) forbli lokalisert til røttene, mens natriumfile planter som sukkerbete vil transportere natrium opp i bladene.

## Historie

Runar Collander fant at stoffers gjennomtrengelighet i en membran var avhengig av stoffenes fettløselighet. Et av Collanders forsøk gikk ut på å bruke den svake basen nøytralrødt som er gul farget i udissoasert alkalisk form, men blir rødt farget som kation i sur løsning. Bakegjær oppslemmet i vann som er gjort basisk med 10% natriumkarbonatløsning tilsettes noen dråper nøytralrødt. Fargen skifter fra gul til rød når nøytralrødt tas opp av cellene. At det er cellene som blir røde kan observeres ved filtrering. Tilsettes litt lut ( $NaOH$ ) er fargen fremdeles rød, men tilsettes ammoniakk skifter fargen tilbake til gul siden ammoniakk kan passere membranen. Collander gjorde studier med *Chara*-alger som plantemateriale.

## Transport gjennom plasmodesmata og membraner



Plantecellene inneholder flere reaksjonsrom (kompartementer) som det er kommunikasjon imellom. De forskjellige reaksjonsrommene inneholder forskjellig sammensetning av molekyler og ioner. Reaksjonsrommene omgitt av membraner atskiller prosesser som ellers kunne innvirke på hverandre. Biomembranene er bygget opp av et dobbeltlag med lipider med innleirete proteiner og steroider. Proteindelen inne i membranen er hydrofob. Salter og oppløste stoffer omgitt av vannmolekyler skaper et turgortrykk i cellene. Ved transport av ioner, sukker og aminosyrer vha. transportmolekyler over membranen bringer de med seg hydratiseringsvann, men dette er lite vann sammenlignet med den passive vanntransporten ned potensialgradienten. Hvis det ikke er noen semipermeabel barriere eller membran vil vann og oppløst stoff følge en trykkgradient fra høyt til lavt trykk, dvs. Vann beveger seg bare fra høyt til lavt potensial hvis det er en semipermeabel membran. Floemtransport er massestrøm av oppløste stoffer langs en gradient i hydrostatisk trykk, og kan derfor gå fra et blad med høyt osmotisk potensial til en rot med lavt osmotisk potensial. Plantecellene er omgitt av en cellevegg og kan omgi seg med rent vann uten å briste. Dehydrerte celler blir mekanisk deformert når de taper cellevolum. **Plasmolyse** oppstår når vann går ut av cellen fordi vannpotensialet på utsiden er lavere enn på innsiden, og turgortrykket blir redusert. Vi har **grenseplasmolyse** når plasmamembranen akkurat ikke lenger trykker mot celleveggen og trykkpotensialet er lik 0. Ved maksimalt turgortrykk er trykkpotensialet maksimalt. Sammenhengen vises i et **Höflerdiagram**. Ved plasmolyse forårsaket av uttørking av cellene eller ved kontakt med sterke saltløsninger (hyperton) vil plasmamembranen delvis bevege seg innover i cellen, men henger fast i celleveggen ved flere kontaktpunkter. Kontaktpunktene til veggen er ved plasmodesmata og ved tynne membrantråder (**Hechttråder**). Hechttråder er plasmamembrantråder festet til veggen. Mengden Hechttråder øker ved lav temperatur. Generelt vil man ikke observere plasmolyse i celler fordi negativt trykk i celleveggen gjør at plasmamembranen forblir presset ut mot celleveggen. Bare hvis det kommer luft inn i celleveggen vil protoplasten skrumpe uavhengig av celleveggen. Strekkaktiverte signalmolekyler i plasmamembranen registrerer vanntilgangen, og det er ikke selve turgortrykket som registreres av reseptorer. Akvaporiner øker hastigheten på vanntransporten, men ikke retningen. Åpningen av akvaporiner kan bli regulert av pH og  $\text{Ca}^{2+}$ .

Hvilken vei vann vil bevege seg gjennom membraner avhenger av de hydrostatiske trykkforskjellene og av osmotiske trykkforskjeller fra oppløste stoffer over membranen. Membranene er en nødvendig forutsetning for biologisk energiproduksjon. Thylakoidmembranen og den indre mitokondriemembranen bruker en protongradient til å lage ATP.

**Membranpermeabilitet** sier noe om i hvilken grad membranen tillater transport av stoffer, og bestemmes av en diffusjonskoeffisient for stoffet gjennom membranen. Kunstige membraner med fosfolipider er blitt brukt i studier av membranpermeabilitet og sammenlignet med egenskapene til biologiske membraner. For begge er det lik permeabilitet for små og ikke-polare molekyler f.eks.  $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$  og glycerol. Biologiske membraner er imidlertid mer permeable for ioner og store polare molekyler, fordi

biologiske membraner inneholder kanalproteiner, bærerproteiner og ionepumper. **Diffusjonspotensial** oppstår når motsatt ladete stoffer passerer membranen med forskjellig hastighet. Diffusjonspotensialet skapes ved diffusjon. Ionetransport følger prinsippet om elektrisk nøytralitet, og ved likevekt vil ionefluksen inn og ut være like.  $K^+$  og  $Cl^-$  vil f.eks. diffundere med forskjellig hastighet over membranen, noe som skaper ladningsseparasjon og elektrisk potensial over membranen som atskiller to kompartementer.

Biomembraner har liten elektrisk ledningsevne, virker som en isolator mellom ledende løsninger, og siden de er selektivt permeable skapes det et elektrisk

**membranpotensial**. Membranpotensialet oppstår når to væskefaser er atskilt av en membran, og er forskjellen i elektrisk potensial mellom de to vannfasene.

Membranpotensialet oppstår når anioner og kationer diffunderer over membranen med ulik permeabilitet slik at det oppstår en ladningsforskjell, og har måleenheten volt. Membranpotensialet angir forskjellen i elektrisk ladning mellom innsiden og utsiden av en celle eller kompartement omgitt av en membran. Alle levende celler har et membranpotensial som skyldes assymetrisk fordeling av ioner og ladninger på innside og utside av membranen. Membranpotensialet kan måles med en mikroelektrode som settes inn i en celle, og en referanseelektrode på utsiden, og viser at cytoplasma inneholder flere negative ladninger enn utsiden og har et potensial fra -20 til -200 mV i forhold til omgivelsene. Fast bundete negative ladninger i celleveggstrukturene gir et **Donnanpotensial**. De fleste proteiner har negativ ladning ved pH 7.5. Nernstpotensialet framkommet fra Nernstligningen beskriver en likevektsituasjon for et spesielt ion, men membranpotensialet dannes av summen av potensialer for mange forskjellige ioner. Protongradienter har spesielt stor betydning for transport i planter og alle ATPaser gir en **elektrogen  $H^+$ -transport**. Elektrogen transport gir netto transport av ladning over membranen. Aktiv transport av ioner ved hjelp av bærerproteiner som leder til ladningsforskjell kalles en **elektrogen pumpe**. Aktiv transport krever energi fra respirasjon eller fotosyntese. pH-gradienter over membraner gir et betydlige bidrag til membranpotensialet.

De forskjellige celletypene i plantene er avhengige av hverandre. Kompartementene som det skjer transport mellom er:

- 1) Intercellularrom
- 2) Cellevegger
- 3) Cytoplasma
- 4) Vakuoler (mange forskjellige typer).
- 5) Celleorganeller (plastider, mitokondrier, cellekjerner, mikrolegemer (peroksysomer, glyoksysomer).
- 6) Membransystemer (endoplasmatisk retikulum, Golgiapparat)

Gjennom **plasmodesmata** skjer det kommunikasjon og transport i **symplasten** fra celle til celle. En plante kan betraktes som en "supercelle" hvor plasmodesmata binder sammen cytoplasma i alle de levende cellene i planten. Det er imidlertid noen steder hvor det ikke er slik kontakt. Dette er mellom:

- 1) lukkeceller og naboceller i kloroplasten.
- 2) maternalt vev og embryo i fruktknuten.
- 3) sporofytt og gametofytt.

Mellom komplekset følgecelle/silrørscelle og omgivende celler kan det i noen tilfeller også være få plasmodesmata (apoplastfylling av silvev) som hos f.eks. poteter (*Solanum tuberosum*), erter (*Pisum sativum*), solsikke (*Helianthus annuus*) og salat (*Lactuca sativa*). I motsetning til planter hvor fotosynteseproduktene fylles inn i silvevet via plasmodesmata (symplastfylling).

**Primære plasmodesmata** lages i celledelingen ved at endoplasmatisk retikulum omgis med celleveggmateriale. **Sekundære plasmodesmata** dannes på seinere utviklingstrinn gjennom allerede eksisterende cellevegger, og cytokinin gir økt dannelse. Plasmodesmata kan ha forskjellig morfologi bl.a. et greinet forløp gjennom celleveggen. Greinete plasmodesmata har betydning når et ungt blad skifter fra å være en mottaker av fotosynteseprodukter til å bli en netto produsent og kilde. Lukkeceller mangler plasmodesmata. Nektarier, saltkjertler og celler i rotspiss har mange plasmodesmata til nabocellene. Sekundære plasmodesmata må kunne bli dannet når en type plantemateriale podes over på et annet. Molekyltrafikken gjennom plasmodesmata er regulert. Virus som sprer seg systemisk i en plante kan ha **bevegelsesproteiner** som åpner plasmodesmata slik at viruset slipper igjennom. Ved vinterhvilen hos trær er plasmodesmata stengt, tett med **kallose**. Om våren fjernes kallose katalysert av enzymet kallase ( $\beta$ -1,3-glukanase). Det kan også dannes kallose etter en virusinfeksjon. Det finnes også andre eksempler på at plasmodesmata stenges. F.eks. i eldre rothår, og mellom rot og rothette. Skades plantevev blir plasmodesmata stengt i skadeområdet. Et blad som er netto importør av fotosynteseprodukter i tidlig utviklingsstadium har mer åpne plasmodesmata enn når bladet går over til å bli netto eksportør. Studiet av transporten gjennom plasmodesmata gjøre bl.a. ved hjelp av fluorescerende stoffer som tilføres cellene gjennom en glass mikropipette ved hjelp av et kortvarig trykk med nitrogengass eller ved en kortvarig spenningsgradient (**iontoforese**). Dette kan brukes til å studere størrelsen på molekyler som kan passere plasmodesmata.

Det er 3 hovedtyper av transportproteiner i membranen, og de er relativt spesifikke for hvilke type forbindelser de transporterer: Kanalproteiner, bærerproteiner og ionepumper.

1) **Kanalproteiner** er transmembranproteiner som virker som selektive porer for transport av ioner og molekyler. Kanalene kan regulere åpning i membranen og hvor det skjer passiv diffusjon. Det er rask og passiv diffusjon gjennom kanalen e.g.  $10^8$  ioner per sekund. Kanalproteiner er åpningskontrollert, slik at kanalene åpnes eller lukkes på signaler fra cellen. Lys, hormoner, spenningsforandringer og fosforylering/defosforylering via protein kinase/fosfatase kan regulere åpning av kanaler. Åpning av spenningsregulerte kanaler skjer ved endringer i membranpotensialet. I tillegg kan konsentrasjonen av  $Ca^{2+}$ , pH og reaktive oksygenforbindelser regulere åpning og lukking av kanalene. Størrelsen på porten og overflateladningen i poren bestemmer spesifisitet. Når membranpotensial blir mer negativt enn Nernstpotensialet så åpnes **innover  $K^+$  kanaler** som gir akkumulering av  $K^+$  i lukkeceller og åpning av stomata. Er membranpotensialet mer positivt enn Nernstpotensialet så åpnes **utover  $K^+$  kanaler**, som gir lukking av stomata og frigivelse av  $K^+$  til xylem eller apoplast. Dette betyr at  $K^+$  kan diffundere ut eller inn av

celler, styrt av membranpotensialet. Det er anionkanaler, som ofte er lite spesifikke, for utfluks av anioner ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) og kalsiumkanaler for transport av  $\text{Ca}^{2+}$  inn eller ut av cellene.

2) **Bærerproteiner** danner proteinporer i membranen. Stoffene som fraktes bindes til et aktivt sete på bærerproteinet og transportkapasiteten er mindre enn for kanaler. Bærere frakter spesifikke stoffer, men er ikke porer gjennom membranen. Binding til det aktive sete gir en konformasjonsendring i proteinet, og substratet dissosierer fra bærerproteinet på den andre siden av membranen. Bærere frakter 100-1000 ioner eller molekyler per sekund. Bærertransport er enten passiv eller aktiv, og således forskjellig fra kanalproteiner. Primær aktiv transport er drevet av kjemisk metabolsk energi eller lysenergi og krever energi koblet til ATP eller absorpsjon av lys i bærerproteinet som i bakterierhodopsin i halobakterier. For å kunne utføre aktiv transport, energetisk oppoverbakettransport av stoffer, må bærer kobles til en energifrigivende prosess slik at endring i fri energi blir negativ. Passiv transport via bærerprotein kalles lettet diffusjon, hvor stoffer fraktes ned en elektrokjemisk potensialgradient uten ekstra tilførsel av energi.

Binding og frigivelse av stoff som skal fraktes ligner enzymkatalyserte reaksjoner og følger enzymkinetikk. Den maksimale transportfluksen  $V_{\max}$  i bærermediert transport er hvor alle de substratbindende setene er opptatt. Konsentrasjonen av bærerprotein er derved begrenset og  $V_{\max}$  gir en indikasjon for antall molekyler som blir fraktet for et spesifikt transportprotein. Konsentrasjonen  $K_m$  gir halvparten av maksimal transporthastighet. Lav  $K_m$  indikerer høyaffinitetstransportsete, og høy  $K_m$  indikerer lavaffinitetstransportsete. Det finnes både høy- og lavaffinitetssystemer for transport av ioner e.g.  $\text{K}^+$  og  $\text{NO}_3^-$ , samt molekyler. Ved lav ytre konsentrasjon av kalium så tas kalium opp med bærer. Ved høy ytre konsentrasjon av kalium så tas kalium opp via spesifikke  $\text{K}^+$ -kanaler, men innfluks er drevet av  $\text{H}^+$ ATPase.

3) **Pumper** frakter ioner og molekyler mot en elektrokjemisk gradient ved hjelp av kjemisk energi. Ionepumper kan være ladningsproduserende (elektrogene); eller elektronøytrale som ikke gir noen endring i ladning på de to sidene av membranen. **Elektrogene pumper** gir ionetransport med netto forflytning av ladning.  $\text{H}^+$ -ATPase og  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase er viktige elektrogene pumper i plantemembraner. Elektronøytral transport gir ingen netto forflytning av ladning.  $\text{H}^+/\text{K}^+$ -ATPase er elektronøytral. Plasmamembran  $\text{H}^+$ ATPase lager  $\text{H}^+$  gradient over membranen. Vakuole  $\text{H}^+$ ATPase og  $\text{H}^+$ PPase pumper  $\text{H}^+$  inn i vakuoler og Golgisisterner. I plasmamembranen hos planter er de viktigste pumpene de som pumper  $\text{H}^+$  og  $\text{Ca}^{2+}$  ut av cytoplasma.

**Sekundær aktiv transport** er bærermediert kotransport drevet indirekte av pumper via en protondrivende kraft. Sekundær aktiv transport bruker lagret energi i en protongradient. Det er to typer sekundær aktiv transport: symport og antiport.

**Symport** (protein symporter) frakter stoffer i samme retning. **Antiport** (protein antiporter) frakter stoffer i motsatt retning. Energien som driver transporten kommer fra  $\text{H}^+$  gradienten laget av en elektroden  $\text{H}^+$ ATPase. Klorid ( $\text{Cl}^-$ ), nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), fosfat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), sukrose, aminosyrer og peptider fraktes over membranen via  $\text{H}^+$  symport. En type peptidtransporter bruker ATP direkte i stedet for den elektrokjemiske gradienten. Klorat ( $\text{ClO}_3^-$ ) som tidligere ble brukt til å drepe planter tas opp som en

analog til nitrat og blir deretter redusert til giftig kloritt. Planter kan få økt toleranse for klorat hvis det skjer mutasjon i gener som deltar i nitrattransport eller assimilasjon.  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase sørger for at konsentrasjonen av kalsium i cytoplasma er lav ca.  $10^{-6}$  M, ved å frakte kalsium til vakuole, ER og cellevegg. Transport av kalsium ut av vakuolen er styrt av  $\text{IP}_3$ .

Transportsystemene viser større eller mindre grad av spesifisitet bl.a. ved frakt av D-sukker og L-aminosyrer. Sure, basiske og nøytrale aminosyrer fraktes av forskjellige systemer.

Pumper tilhører ATP-bindende kasettfamilien av transportører og kan frakte store molekyler.

Et protein som transporterer kalium ( $\text{K}^+$ ) kan til en viss grad frakte rubidium ( $\text{Rb}^+$ ) og cesium ( $\text{Cs}^+$ ), selv om de to sistnevnte grunnstoffene ikke er essensielle for planteveksten. Elektrofysiologiske målinger av ionetransport baserer seg på måling av lave strømstyrker (pikoampere), og bruk av glass mikrokapillarer og mikromanipulator ("patch-clamp" teknikk).

Dyr har  $\text{Na}^+\text{K}^+$ ATPase som pumper ut  $3\text{Na}^+$  for hver  $2\text{K}^+$  inn, og blir derved elektroten med en positiv ladning ut.  $\text{H}^+\text{K}^+$ ATPase i fordøyelsessystemet er elektronøytral.

Ioner beveger seg passivt langs en minskende **elektrokjemisk potensialgradient**. Marine alger opptak av nitrat og aminosyrer avhengig av natrium ( $\text{Na}^+$ ).

Transportproteinene ligner på enzymer ved at de har en form for substratspesifisitet, men atskiller seg ved at det ikke skjer noen endring av substratet som fraktes.

Transporten følger i mange tilfeller Michaelis-Menten kinetikk. Det kan være forskjellige opptakssystemer tilpasset lave eller høye konsentrasjoner av stoffene som fraktes. Protongradienten som drivkraft for transport av andre stoffer har stor betydning hos planter. Drivkraften påvirkes av konsentrasjonsforskjellen over membranen og membranpotensialet. Membranpotensialet kan angis i kJ per mol eller som millivolt (mV).

## Protongradient koblet til transport

Elektroten  $\text{H}^+$ -ATPase i plasmalemma og tonoplast lager en  $\text{H}^+$ -gradient med energi fra ATP. Den protondrivende kraften kan frakte andre stoffer i samme retning ved **symport** eller motsatt retning ved **antiport**. Eksempler på symporttransport er frakt av aminosyrer, sukrose, og anioner som nitrat, fosfat og klorid inn i cellen.  $\text{H}^+$ -sukrose symport finnes i følgeceller, men også i silrørsceller hvor mRNA overføres via plasmodesmata. Natrium ( $\text{Na}^+$ ) fraktes ut av cellen ved antiport. Fosforylerte ATP-aser i plasmamembranen kalles P-type ATP-ase. Vanligvis er vakuolene sure i forhold til cytoplasma og protonene kommer fra  $\text{H}^+$ -ATPase. Noen typer blad (hagerabarbra (*Rheum x hybridum*), syre (*Rumex*), gjøkesyre (*Oxalis*) pH 1.9-2.6) og frukt (sitron (*Citrus limon*) pH 2.5 og lime (*Citrus aurantifolia*) (pH 1.7) kan være svært sure. Den lave pH blir opprettholdt av organiske syrer som malat (eplesyre), oksalsyre og sitronsyre, som også virker som buffere.  $\text{H}^+$ -ATPasene i plasmalemma som kodes av en multigenfamilie er forskjellige fra de i vakuolemembranen (V-type). V-type  $\text{H}^+$ -

ATPase ligner mer på dem man finner i kloroplaster og mitokondrier (F-type). Det transporteres enn  $H^+$  for hver molekyl MgATP som hydrolyseres. Fosfat midlertidig bundet til aspartyl med en acylfosfatbinding, og fosforylering av enzymet gir lavere affinitet for  $H^+$  som derved løsner. Deretter hydrolyseres enzym-fosfatbindingen.  $H^+$ -ATPase kan aktiveres auxin. Vakuolemembranen inneholder også en  $H^+$ -PPase ( $H^+$ -pyrrofosfatase) som utnytter energien i pyrofosfat.

Cytoplasma inneholder en lav konsentrasjon av kalsium ( $Ca^{2+}$ ), i størrelsesorden 0.1  $\mu M$ , mens konsentrasjonen i celleveggen og vakuolen er høy. Åpning av kalsiumkanaler induisert av inositoltrifosfat gir en midlertidig økning av kalsium i cytoplasma og virker som et metabolsk signal i en signalkjede og gir en midlertidig depolarisering.

"Patch-clamp" teknikk brukes til å studere åpning og lukking av ionekanaler. Vann fraktes over membranene ved hjelp av vannkanalproteiner kalt **akvaporiner**. Osmotisk potensial (osmotisk potensial) og hydrostatisk trykk (trykkpotensial)

bestemmer vannbevegelse

$$J = L_p(\Delta P - \sigma\Delta\pi)$$

J er vannfluks,  $L_p$  er drivkraften  $m s^{-1} MPa^{-1}$ ,  $\sigma$  er refleksjonskoeffisienten som er lik 1 for upermeable stoffer og 0 for fritt gjennomtrengelige stoffer. Vann kan også til en viss grad passere biomembraner utenfor vannkanalene.

## ABC transportører

Disse som har fått navn etter ("**A**TP-**b**inding **c**assette") frakter organiske stoffer som flavonoider, sekundærmolekylter, xenobiotika inn i vakuolen ved hjelp av ATP, men uavhengig av pH-gradienter og elektrokjemisk potensial. ABC transportørene er ufølsomme for protonofore som ødelegger pH-gradienten. De har en fosforylert form som hemmes av vanadat på samme måte som P-type  $H^+$ -ATPase. ABC transportproteiner tilhører en stor gruppe proteiner.

## Nernstligningen og potensialer

Ionefluks er relatert til kjemisk potensial. Nernstligningen uttrykker ved likevekt sammenhengen mellom elektrisk potensialforskjell over membranene og konsentrasjoner av et ion på begge sider av membranene. Nernstligningen kobler membranpotensial og fordeling av ioner ved likevekt. Nernstligningen sier noe om ioner er i likevekt over membranene, eller om det er aktiv eller passiv transport over membranene. Ligningen kan utledes ved å sette det kjemiske potensialet på innsiden av membranene lik potensialet på utsiden. Forskjellen i elektrisk potensial mellom to steder er et mål på elektrisk arbeid som må utføres for å flytte en ladning fra et sted til

et annet.

Det kjemiske potensialet ( $\mu$ ) har referanse  $\mu^*$  og er lik:

$$\mu = \mu^* + RT \ln c + zFE + VP$$

Leddet  $zFE$  gjelder ioner hvor  $z$  er elektrisk ladning, positiv for kationer og negativ for anioner,  $z = +1$  for enverdige kationer,  $+2$  for toverdige kationer og  $-1$  for enverdige anioner.  $F$  er Faradays konstant lik 96.500 coulomb per mol (elektrisk ladning til 1 mol protoner).  $E$  er elektrisk potensial i forhold til en referanse. Leddet  $RT \cdot \ln c$  gjelder oppløste stoffer, hvor  $R$  er gasskonstanten,  $T$  er absolutt temperatur og  $c$  er konsentrasjon.  $VP$  er produkt av partielt molalt volum  $V$  (volumendring ved tilførsel av 1 mol stoff) og trykk ( $P$ ).

Det elektriske potensialet har enheten  $J \text{ mol}^{-1}$ , mens vannpotensial hadde enheten  $J \text{ m}^{-3}$ . Ved likevekt vil de elektrokjemiske potensialene på innsiden og utsiden av emembranen være like:

$$\mu_{inne} = \mu_{ute}$$

$$\mu_0 + RT \ln c_{inne} + zFE_{inne} = \mu_0 + RT \ln c_{ute} + zFE_{ute}$$

$$\Delta E = E_{inne} - E_{ute} = \frac{RT}{zF} \ln \left( \frac{c_{ute}}{c_{inne}} \right) = \frac{2.303RT}{zF} \log \left( \frac{c_{ute}}{c_{inne}} \right)$$

$(2.303 RT)/F = 58.2 \text{ mV}$  ved  $20^\circ\text{C}$ ,  $59.2 \text{ mV}$  ved  $25^\circ\text{C}$  og  $60.2 \text{ mV}$  ved  $30^\circ\text{C}$ . Ved  $20^\circ\text{C}$  får vi derfor:

$$\Delta E = \frac{58.2}{z} \log \left( \frac{c_{ute}}{c_{inne}} \right)$$

Transporten av  $K^+$  er avhengig av en elektrokjemisk potensialgradient.  $K^+$  kan transporteres passivt mot en konsentrasjonsgradient. Et Nernstpotensial på  $58.2 \text{ mV}$  vil kunne opprettholde en 10 gangers konsentrasjonsforskjell, 1:10, f.eks.  $1 \text{ mM } K^+$  på utsiden og  $10 \text{ mM } K^+$  på innsiden av plasmamembranen i passiv likevekt. For toverdige ioner vil det tilsvarende potensialet bli  $29.1 \text{ mV}$ .  $K^+$  transporteres passivt inn i cytosol og vakuole. Ved lav ytre konsentrasjon av  $K^+$  tas  $K^+$  opp aktivt.  $K^+$  har størst indre konsentrasjon, har høy membranpermeabilitet og diffusjonspotensialet er tilnærmet lik Nernstpotensialet for  $K^+$ .

Nernstpotensialet sammenlignet med det målte membranpotensialet indikerer om et ion er i likevekt over membranen, og om det er aktiv eller passiv transport av et ion over membranen. Imidlertid tar Nernstpotensialet bare for seg ett ion ad gangen. Vanligvis har anioner som nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), sulfat ( $\text{SO}_4^-$ ), fosfat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) og klorid ( $\text{Cl}^-$ ) høyere konsentrasjon inne i cellen enn det som er predikert fra Nernstligningen, og dette indikerer at disse ionene tas aktivt opp over membranen og inn i cytosol. Natrium ( $\text{Na}^+$ ), magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ) og kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) har lavere indre konsentrasjon enn det som er predikert fra Nernstligningen, noe som indikerer aktiv transport ut. Natrium, kalsium og magnesium pumpes aktivt ut av cytosol og inn i vakuole,



ekstracellulært rom og andre kompartementer. Vakuolen kan utgjøre mer enn 90% av cellevolumet i voksne celler, og cytoplasma er tynt og klempt ut mot veggen. Derfor har man brukt kransalger (*Chara*) og grønnalgen *Nitella* som har store celler, i studiet av membranpotensial og membrantransport.

Nernst-ligningen er en overforenkling av hva som skjer i cellen, fordi det er flere indre kompartementer i cellen, cytosol, vakuole og organeller med forskjellig ionesammensetning. Ved steady-state er innfluks=utfluks for et stoff, men steady-state er ikke nødvendigvis det samme som likevekt. Aktiv transport over membranen hindrer diffusjonsfluksen fra å nå likevekt.

## Goldmanligning og elektrogen $H^+$ ATPase

Flere ioner transporteres samtidig gjennom membranen og hvordan flere ioner samtidig påvirker potensialet kan beskrives av **Goldmanligningen**, som er en modifisering av Nernstligningen. Goldmanligningen er modifisert for  $K^+$ ,  $Na^+$  og  $Cl^-$  og gir et mål på et Goldman diffusjonspotensial. Er permeabilitet og ionegradienten kjent kan diffusjonspotensialet beregnes ut fra Goldmanligningen.

Planteceller og sopp har membranpotensial fra -100 til -200 mV, som er mer negativt enn det som beregnes ut fra Goldmanligningen (-50 til -80 mV). Denne forskjellen i predikert diffusjonspotensial og målt membranpotensial skyldes **elektrogen  $H^+$ ATPase** i membranen. Transport av nettoladninger som flytter membranpotensialet vekk fra Goldman diffusjonspotensialet kalles en **elektrogen pumpe**.

Membranpotensialet i planteceller = diffusjonspotensial + resultat av elektrogen transport.

Overskudd av  $H^+$  fra metabolismen pumpes aktivt ut og gjør at cytosol har ca. pH 7, mens vakuole og ekstracellulært rom er sure. Hvis et ion fraktes inn eller ut av en celle blir det balansert av et ion med motsatt ladning, enten i samtransport med et ion med motsatt ladning, eller antiport med et ion med samme ladning.

Plamamembran  $H^+$ ATPase og  $Ca^{2+}$ ATPase er **P-type  $H^+$ ATPase** som er fosforylert som en del av hydrolysen av ATP. Enzymet hemmes av ortovanadat ( $HVO_4^-$ ) som er en fosfat analog som konkurrerer med fosfat fra ATP i fosforylering av et aspartatsete.  $H^+$ ATPase har ti membranløkker og er kodet av en genfamilie med ti gener som gir vevsspesifikke isoformer av enzymet.  $H^+$ ATPase er regulert av pH, lys, temperatur, hormoner og patogener. **V-type  $H^+$ ATPase** ligner F-ATPase i mitokondrier og kloroplaster, har ikke et fosforylert intermediat og hemmes derfor ikke av vandat. V-typen hemmes av antibiotikumet bafilomycin og av høy konsentrasjon av nitrat.

Vakuole  $H^+$ ATPase i tonoplast er elektrogen og pumper  $H^+$  fra cytoplasma inn i vakuolen. Dette gjør at vakuolen får et membranpotensial som er 20 til 30 mV mer positiv enn vakuolen. Cytosol har pH 7-7.5 og membranpotensial ca. -120 mV, mens vakuolen har ca. PH 5.5 og membranpotensial ca. -90 mV. For å opprettholde elektrisk nøytralitet fraktes klorid og malat fra cytoplasma til vakuole.

Cyanid ( $CN^-$ ) som hemmer respirasjonen og syntese av ATP gir redusert membranpotensial og bringer membranpotensialet tilbake til Goldmanpotensialet. Cyanid øker pH i det ytre medium og cytosol blir mer sur fordi  $H^+$  forblir i cytosol pga. mangel på ATP.  $H^+$ ATPase finnes også i bakterier, alger og nyreepitel.

**Hyperforsuring** finnes i vakuoler i sitron, lime, rabarbra, gjøkesyre o.a. Forsuringen skyldes lav permeabilitet for  $H^+$  over vakuolemembranen (tonoplast), en effektiv  $H^+$ ATPase og at organiske syrer som sitronsyre, eplesyre (malat) og oksalsyre som gir lav pH også virker som en buffer.

I toneplast finnes også  **$H^+$ pyrofosfatase** ( $H^+$ PPase) som bruker energi fra hydrolyse av pyrofosfat (PP) til å pumpe  $1H^+$  per PP over membranen.  $H^+$ ATPase frakter  $2H^+$  per ATP.  $H^+$ PPase finnes også i bakterier og protister, men ikke i dyr og bakegjær.  $H^+$ PPase blir induisert ved hypoksis og lav temperatur, og kan delta i transporen av auxin.

## Aksjonspotensial

Svir man med en fyrstikk enden av et blad hos *Mimosa pudica* klapper småbladene sammen synkront etter et signal som beveger seg videre gjennom planten. Hvilemembranpotensialet er ca.  $-150$  mV, men ved berøring skjer det en rask og dramatisk endring av permeabiliteten over membranen kalt aksjonspotensial. Et aksjonspotensial oppstår når et stimulus gir en midlertidig åpning av en selektiv ionekanal i membranen slik at det oppstår en fluks av ioner ned deres elektrokjemiske gradient. Derved skjer den en **depolarisering** av membranen i løpet av millisekunder slik at cytoplasma blir mer elektrisk positiv i forhold til de ytre medium før det returnerer til opprinnelig verdi. Forut for sammenklapping av pulvinusceller (hengsleceller) ved basis av blad og bladstilk hos planten *Mimosa pudica* er det et aksjonspotensial som beveger seg  $1-10$  cm  $s^{-1}$ . De seismonastiske bladbevegelsene skyldes utlating av kalium i de ytre regioner av pulvinus. Pulvinusceller blir påvirket av blått lys. Andre planter som har relativt raskt bevegelser er venus fluefanger (*Dionaea muscipula*), telegrafplanten (*Desmodium gyrans*), og blomsterdeler hos *Berberis*, gjøglerblom (*Mimulus*) og *Stylidium*, samt pollinier hos orkidéer.

## Assimilasjon av grunnstoffer

### Nitrogenassimilasjon

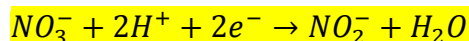
Næringsstoffassimilasjon vil si inkorporering av mineralnæring inn i organisk stoff. Planter er autotrofe og lager organiske molekyler fra uorganiske stoffer hentet fra omgivelsene. Assimilasjon av karbon skjer i Calvinsyklus, og både karbon, nitrogen og svovel må reduseres i energikrevende reaksjoner før de kan bli inkorporert i organiske forbindelser. Assimilasjon av kationer kan skje i komplekser med organiske molekyler.

Nitrogen er det grunnstoffet fra jorda som i størst grad regulerer veksten av planter, og som plantene trenger størst mengde av. Nitrogen inngår i aminosyrer, nukleinsyrer og klorofyll. Nitrogenmangel hemmer veksten raskt, gir klorose

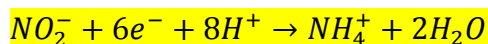
(gulfargete blad) og de eldste bladene rammes først. De eldre gulhvite blad visner og faller av, unge blad blir lysegrønne. Ved nitrogenmangel blir stengelen mer slank og treaktig pga. opphopning av karbohydrater, som også gir syntese av rødfargete anthocyaniner på blad, bladstilk og stengel hos arter som lager anthocyaniner. Dødt organisk stoff i jorda nedbrytes i **N-mineraliseringen** til aminosyrer (aminofisering) og ammonium (ammonifisering). Ammonium kan omdannes til nitrat ved **nitrifikasjon**. **Nitrat** og **ammonium** er hovedkildene til uorganisk nitrogen som tas opp av planterøttene. Nitratassimilasjonen skjer i både røtter og skudd. Noen planter i symbiose med mikroorganismer kan ta opp dinitrogen fra lufta i biologisk nitrogenfiksering. Aminosyrer i jorda og urea er andre nitrogenkilder plantene kan utnytte. Nitrat fra jordløsningen tas opp av røttene i høy- og lavaffinitets opptakssystemer som **nitrat-H<sup>+</sup> kotransport**. Planter som ikke har hatt tilgang til nitrat har et lavkapasitets konsitutivt opptakssystem for nitrat, men ved nitrattilførsel vil i løpet av 20 min et høykapasitetssystem etableres. Nitrat kan også tas opp i blader hos epifytter og ved bladgjødsling. Nitrat kan lagres i vakuoler i røtter, stengler og blad.

Nitrat reduseres til ammonium i en totrinns reaksjon ved hjelp av enzymene:

1) **Nitrat reduktase**, en to-elektron reduksjon av nitrat til nitritt.



2) **Nitritt reduktase**, en seks-elektron reduksjon av nitritt til ammonium.



Overgangen fra nitrat til nitritt og videre til ammonium trenger 10 elektroner og står for ca. 25% av energiforbruket i skudd og røtter, men nitrogen utgjør bare ca. 2% av den totale tørrvekt. Mange assimilasjonsreaksjoner skjer i stroma i kloroplastene hvor energi er tilgjengelig. Fotoassimilasjon er næringsassimilasjon koblet til fotosyntetisk elektrontransport. Det er nær kobling mellom nitrogenmetabolisme og fotosyntese, siden fotosyntesen bidrar med reduksjonskraft (reduert ferredoksin eller NAD(P)H) som trengs for å redusere nitrat til ammonium. Nitrat reduktase i cytoplasma består av to identiske subenheter nneholder de tre prostetiske gruppene flavin adenin dinukleotid (FAD), hem-jern (cytokrom b<sub>557</sub>) og molybden-kofaktor (molybdopterin som er et molybdenkompleks bundet til pterin i et organisk molekyl). FADH<sub>2</sub> i nitrat reduktase kan også redusere andre elektronekseptorer som Fe<sup>3+</sup>-citrat. I nitrat reduktase er NADH den vanligste elektrondonoren, men røttene bruker NAD(P)H. FAD-domene mottar to elektroner fra NAD(P)H, og elektronene går deretter via hem-domene til molbydenkompleks og deretter til nitrat.

Det er sjelden nitritt akkumuleres i planten under normale betingelser noe som tyder på synkronisering av de to enzymaktivitetene.

Nitritt som er produktet fra nitrat reduktase går inn i plastider og omdannes til ammonium av nitritt reduktase.

Nitritt reduktase inneholder siroheme, binder ferredoksin og finnes i kloroplaster i bladene eller i plastider i røttene. Nitritt reduktase kodes fra cellekjernen og har N-

terminal transitpeptid. Sammenlignet med nitrat reduktase som overførte 2 elektroner overfører nitritt reduktase 6 elektroner. Elektronene kommer fra redusert ferredoksin i fotosyntesen, i fargeløse plastider fra ferredoksin NADP<sup>+</sup> reduktase. NAD(P)H fra pentosefosfatvei kan også brukes av nitritt reduktase. Kloroplaster og plastider i røttene har forskjellige former av nitritt reduktase, men begge består av en polypeptidkjede med to prostetiske grupper: jern-svovelklynge (Fe<sub>3</sub>S<sub>4</sub>) og hem.

Nitrat og lys induserer transkripsjonen av nitritt reduktase mRNA, og endeproduktene asparagin og glutamin represserer induksjonen. Nitratassimilasjonen skjer både i røtter og skudd, men hvor aktiviteten er størst avhenger av plantearart. Lupiner, erter og bønner har høyest nitratreduksjon i røttene, men hvitkløver, havre og mais har høyest nitratreduksjon i skuddet. Det er mange overgangsformer.

C4-planter har både nitrat reduktase og nitritt reduktase i mesofyllcellene, men disse enzymene finnes ikke i slirecellene. Reduksjonen av nitrat gir opptak av H<sup>+</sup> og pH vil stige.

Som en bieffekt av nitrogenassimilasjonen vil 0.02 til 0.2% av alt nitritt bli redusert til lystgass (N<sub>2</sub>O) som virker som en drivhusgass.

Det er ofte en sammenheng mellom aktiviteten til nitrat reduktase og mengden redusert nitrogen i blad. Grønne blad inneholder mer nitritt reduktase enn nitrat reduktase. Nitritt reduktase inneholder jernporfyrin. Genet for nitrat reduktase reguleres av nitratkonsentrasjon, lys, glutamin, karbohydrater, sirkadiske rytmer og cytokinin. Reguleringen skjer både på transkripsjons- og translasjonsnivå. Rask regulering av nitrat reduktase via fosforylering og defosforylering. Nitrat reduktase kan fosforyleres og defosforyleres analogt med enzymet sukrosefosfat syntase. Lys og karbohydrat aktiverer protein fosfatase som defosforylerer serin på nitrat reduktase. Mørke og Mg<sup>2+</sup> aktiverer en serin protein kinase og nitrat reduktase inaktiveres. Protein med fosforylert serin interagerer med 14-3-3 inhibitorprotein . Posttranslasjonskontroll skjer via 14-3-3 proteiner som bindes avhengig av fosforylering. Fosforylert nitrat reduktase er aktiv, men binding av 14-3-3 dimer er inaktiv og kan raskere degraderes av proteaser. mRNA til nitrat reduktase følger sirkadiske rytmer.

Klorat (ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>) tas opp og reduseres til kloritt (ClO<sub>2</sub><sup>-</sup>) av nitrat reduktase, og har vært brukt som ugrasdreper.

Nitrat kan lagres i vakuolen hos **nitrofile arter** som meldestokk (*Chenopodium album*) og brennesle (*Urtica dioica*). Slike planter kalles **nitratplanter** og vokser på jord med sterkt nitrifikasjon nær kvist- og komposthauger f.eks. geitrams (*Chamaenerion angustifolium*) og bringebær (*Rubus idaeus*) og mjøduert (*Filipendula ulmaria*). I området mellom skogkant og dyrket mark kan man finne nitratplanter, og mange av dem betraktes som ugras. Planter som vokser ved lave lysflukser i drivhus om vinteren kan inneholde høye konsentrasjoner med nitrat. Spinat inneholder mye nitrat og spinat bruker nitrat som osmoregulator hvor konsentrasjonen kan komme opp i 100 mM.

Salat og spinat som dyrkes med lite lys og høy tilførsel av nitratgjødsel kan inneholde skadelige mengder nitrat. Leveren reduserer nitrat til nitritt som sammen med hemoglobin gir methemoglobin ("blue babies" og methemoglobineri). Nitrat kan

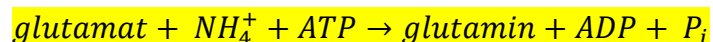
også bli omdannet til karsinogene nitrosaminer. Ammoniakk (NH<sub>3</sub>) er giftig og ødelegger protongradienter, men vi blir advart via den kraftige ammoniakklukten. I gamle dager ble ammoniumkarbonat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) brukt som "luktesalt" mot besvimelse).

Krutt, sprengstoff, ammoniumnitrat, nitroglycerin og TNT har en virkning basert på rask oksidasjon av nitrogen og svovel.

## Ammoniumassimilasjon

Planter har et multifasisk opptak av ammonium. Uorganisk nitrogen i form av ammonium assimileres via enzymene **glutamin syntetase** (GS) og **glutamin-oksoglutarat aminotransferase** (GOGAT) inn i organiske forbindelser i plantene som aminosyrene glutamin og glutamat. Nitrogen kan deretter overføres til andre aminosyrer og brukes til syntese av nukleinsyrer, klorofyll og andre forbindelser som inneholder nitrogen.

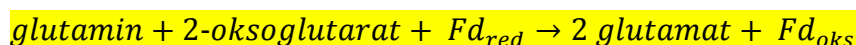
Glutamin syntetase katalyserer omdanning av glutamat til glutamin i en ATP-avhengig reaksjon, og har høy affinitet for ammonium (lav K<sub>m</sub>-verdi):



I blad er det to isoenzymer av GS, en i cytosol og en i kloroplastene eller plastider i røtter. Cytosolformen av GS uttrykkes i spirende frø og i ledningsstrenger i skudd og røtter hvor det lages glutamin in intracellulær nitrogentransport. GS aktiveres av høy pH og høye konsentrasjoner av ATP og Mg<sup>2+</sup>. GS i rotplasmider gir amid-N, og GS i skudd reassimilerer ammonium fra fotorespirasjon. Lys og karbohydrater påvirker ekspresjon av GS i plastider, men har liten effekt på GS i cytosol.

Det neste trinnet i ammonium assimilasjonen, glutamat syntase (GOGAT), katalyserer overføringen av amidgruppen (-NH<sub>2</sub>) fra glutamin til 2-oksoglutarat - et produkt fra Krebs-syklus.

Glutamat syntase også kalt glutamin:2-oxoglutarat aminotransferase (GOGAT) lager glutamat med hjelp av redusert ferredoksin i blad:

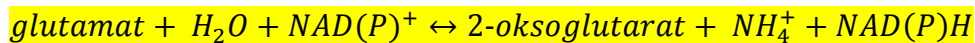


NADH-GOGAT er vanligst i ikke-fotosyntetiserende vev i røtter og ledningsstrenger. GS/GOGAT tar også hånd om de store nitrogenmengdene som frigis under fotorespirasjon. Plantene inneholder to typer GOGAT, et NAD(P)H-avhengig (NAD(P)H-GOGAT) og et ferredoksinavhengig enzym (Fd-GOGAT). Glutamin syntetase hemmes av methionin sulfoximin og herbicidet phosphinothricin. GOGAT i røtter assimilerer ammonium fra rhizosfæren og finnes i ledningsstrenger i blad som vokser

Ammonium som er blitt assimilert kan overføres til ketosyrer via transaminering. Aminotransferaser (transaminaser) overfører N fra et karbonskjelett til et annet. Det finnes flere forskjellige **aminotransferaser** som aspartat aminotransferase, alanin aminotransferase, greinete aminosyrer aminotransferase o.s.v. Transaminaser trenger **pyridoksalfosfat** (vitamin b<sub>6</sub>) som kofaktor. Enzymene finnes i cytoplasma og

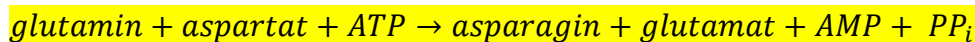
alle organellene i cellen. Det er i kloroplastene det lages mest aminosyrer.

I mitokondrier og kloroplaster finnes enzymet **glutamat dehydrogenase**, som man opprinnelig trodde hadde ansvaret for assimilasjonen av ammonium. Det er imidlertid mer rimelig at enzymet har med nedbrytning av glutamat



Imidlertid, hvis det er høye konsentrasjoner av ammonium tilstede kan noe av dette assimileres av glutamat dehydrogenase. Det finnes flere isoenzymer av glutamat dehydrogenase. NAD-avhengig GDH i mitokondriene og NADP-avhengig GDH i kloroplastene. Glutamin, asparagin og arginin er viktige aminosyrer for transport og lagring av nitrogen. Asparagin (2N+4C) og glutamin (2N+5C) er amider som kobler karbon- og nitrogenmetabolismen. Asparagin ble isolert fra asparges første gang i 1806.

**Asparagin syntetase** katalyserer reaksjonen:



Det er mer asparagin i mørke enn når plantene står i lys, og omvendt mer glutamin i lys enn i mørke. Effekten av lyset skjer via mengden karbohydrater. Høyt nivå av lys og karbohydrater hemmer uttrykk av gener som koder for asparagin syntetase, mens tilsvarende betingelser aktiverer GS-GOGAT. Ved store konsentrasjoner med ammonium kan ammonium erstatte glutamin som substrat for asparagin syntetase. I proteinsyntesen blir de forskjellige aminosyrene koblet sammen med peptidbindinger ( $\text{R}_1\text{-CO-NH-R}_2$ ). Proteiner er polypeptider som består av mer enn 100 aminosyrer.

## pH-regulering og opptak av nitrat og ammonium

Nitratopptak gir mer basisk rotmiljø (alkalisering) enten ved en  $\text{H}^+/\text{NO}_3^-$  symport eller en  $\text{OH}^-/\text{NO}_3^-$  antiport. Det mest sannsynlige er at to protoner kotransporteres sammen med nitrat inn i cellene. Membranpotensialet på opptil -200 mV på innsiden av cellen laget  $\text{H}^+\text{ATPase}$ , blir mer positiv når nitrat blir tatt opp. Opptak av ammonium gir en forsurening av rotsonen ved utskillelse av protoner i bytte mot ammonium.

Kalsifuge planter, - planter som er tilpasset sur jord og lavt redokspotensial foretrekker ammonium som N-kilde, selv om de fleste planter vokser best hvis de får både ammonium og nitrat. Kalsikole, planter som foretrekker kalk og høy pH i jorda foretrekker nitrat. Ammonium og nitrat står for 80 % av ioneopptaket av mineralnæringsstoffer.

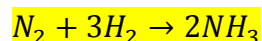
Et eksempel fra poteter. Store mengder nitrogen vil redusere knolldannelse hos potet og gir mye bladverk. Stopp i veksten av knollen pga rask økning i nitrogen induserer nyvekst i knollen og dannelse av stoloner på fra apeks på knollen. Avbrudd og nytilførsel av nitrogen gir kjedelignende poteter, eller utløpere fra potet (mann). Slike kjedepoteter kan ofte sees etter midlertidige tørkeperioder, men skjer også ved høy temperatur, som raskt hemmer syntesen av stivelse og gir sukker i knollene.

Under lite optimale vekstbetingelser i potetplanten, som høy temperatur og lav lysintensitet bruker store mengder assimilater til skudd og rotvekst og dette hemmer knolldannelse. Er det allerede dannet knoller kan disse bli tømt under de dårlige vekstbetingelsene. Forholdet mellom C/N påvirker også slik at høyt N-innhold gir liten knolldannelse med stor skuddvekst. Knolldannelsen skjer under hormonkontroll. Potetknollene dannes på underjordiske stengler, stoloner, som kan defineres som laterale sideskudd. Knollen dannes like bak stolonspissen og svellingen skjer akropetalt. Det lagres stivelse og glykoproteinet patatin. Under veksten skjer både celledelinger og økning i cellestørrelse. Når knollen er moden stopper celledelingen, men økningen i størrelse fortsetter. På intakte planter dannes poteten under jorda, men tar man stengelbiter med akselknopper kan potetknoller utvikles fra akselknoppen. Knolldannelsen er kompleks. Fotoperiode og temperatur spiller stor rolle.

Jackson, S.D.: Multiple signaling pathways control tuber induction in potato. *Plant Physiol.* 119 (1999) 1-8.

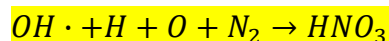
## Biologisk nitrogenfiksering

Luft inneholder 78% nitrogen, men eukaryoter kan ikke bruke dinitrogen ( $N_2$ ) fra lufta direkte. Imidlertid, mikroorganismer (prokaryoter) kan bruke tre livsstrategier for å fikse dinitrogen: symbiotisk, assosiativ og frittlevende. Industriell nitrogenfiksering skjer ved Haber-Bosch-metoden hvor nitrogen og hydrogen omdannes katalytisk til ammoniakk ved høy temperatur ( $<200^\circ\text{C}$ ) og høyt trykk ( $>200$  atmosfærer) og gir mer enn  $80 \cdot 10^{12}$  g nitrogen  $\text{år}^{-1}$ . Nitrogenfikseringen er endergonisk siden trippelbindingen i dinitrogen skal brytes.

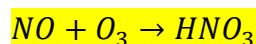


Av naturlig nitrogenfiksering utgjør biologisk nitrogenfiksering ca. 90% ( $190 \cdot 10^{12}$  g nitrogen  $\text{år}^{-1}$ ).

Resten av den naturlige nitrogenfikseringen skjer ved lyn (8%):



og fotokjemisk (2%):

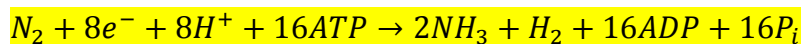


Ved alle forbrenningsreaksjoner ved høy temperatur dannes det nitrogenoksider ( $NO_x$ ) og disse blir oksidert i atmosfæren til  $HNO_3$ .

Biologisk nitrogenfiksering er energikrevende og trenger minst  $960 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ N}$  som fikses. **Nitrogenase** er et enzymkompleks som bare finnes i nitrogenfikserende



mikroorganismer, og består av et **jernprotein** (Fe protein, dinitrogen reductase) og et større **molybden-jernprotein** som bruker molybdopterin som prostetisk gruppe og fungerer som en dinitrogenase. Jernproteinet består av to subenheter med jern-svovelklynge ( $4\text{Fe } 4\text{S}^{2-}$ ) mottar elektroner fra ferredoksin/flavodoksin. Jernproteinet blir irreversibelt inaktivert av oksygen på under ett minutt. Molybden-jernprotein består av fire subenheter, hver subenhet med to MoFe-S klynger, og dette blir også inaktivert av oksygen. Ferredoksin er elektrondonor til jernprotein som hydrolyserer ATP og reduserer molybden-jernproteinet. Jernproteinet overfører deretter elektroner til MoFe-proteinets koblet til hydrolyse av ATP. ATP kravet er stort, vanligvis fra 20-30 mol ATP per mol fiksert nitrogen. For hvert gram N som blir fiksert trengs opptil 15 g karbohydrat. Protonering av molybden er første trinnet i nitrogenfikseringen og da kan hydrogen ( $\text{H}_2$ ) frigis som et biprodukt. MoFe-proteinet binder  $\text{N}_2$  og  $\text{H}^+$  og danner  $\text{NH}_3$ . Opptil 25 % av elektronstrømmen gjennom nitrogenase kan brukes til å lage hydrogen.



Effektiviteten til nitrogenfikseringen avhenger av i hvilken grad bakteriene klarer å ta hånd om utskilt hydrogen og refiksere det med en hydrogenopptaks hydrogenase,



som resirkulerer elektroner og protoner fra hydrogen.

Molybden-jernproteinet kan også redusere andre stoffer f.eks. acetylen som blir omdannet til etylen. Bruk av acetylen som kunstig substrat er en viktig metode for å måle nitrogenaseaktivitet. Lystgass og azid er andre stoffer som enzymet kan redusere. Elektronene til nitrogenfikseringen kommer fra redusert ferredoksin. Nitrogenase er ekstremt følsom for oksygen, og nitrogenfikserende organismer har valgt forskjellige strategier for å kontrollere og holde lav oksygenkonsentrasjon i nærheten av nitrogenase. Bakterier som lever under anaerobe forhold f.eks. *Clostridium* og den fotosyntetiske bakterien *Rhodospirillum* har løst problemet ved at de vokser på steder uten oksygen (anaerobt). Bakterier kan også lage mikroaerofile omgivelser ved å bruke opp oksygen ved høy respirasjon, altså respiratorisk beskyttelse av nitrogenase f.eks. *Azotobacter*. *Gloeotheca* utfører fotosyntese om dagen og nitrogenfiksering om natten. Nitrogenfikserende bakterier kan også leve i kolonier med en slimskjede som begrenser diffusjonen av oksygen. Nitrogenase kan beskyttes av mekaniske barrierer. Blågrønnbakterier som vokser i miljø med liten tilgang på ammonium f.eks. *Anabaena* har fysisk atskilt nitrogenase i **heterocyster** med hard vegg. Heterocystene har tykk vegg, mangler fotosystem II, inneholder bare fotosystem I slik at fotosyntesen utvikler ikke oksygen i heterocystene. Blågrønnbakterier som mangler heterocyster kan bare fikse nitrogen under anaerobe betingelser. Blågrønnbakterier kan fikse nitrogen hos *Gunnera* (*Nostoc*), *Cycas*, *Macrozamia* (*Nostoc*), bregner, vannbregnen *Azolla* (*Anabaena*) og levermoser. Stengelkjertler hos *Gunnera* utvikles uavhengig av blågrønnbakterien *Nostoc*. Lungenever (*Pulmonaria*) fikserer nitrogen i symbiose med *Nostoc*, men generelt er ikke-nitrogenfikserende grønnalger mest vanlig i

symbiose med lav.

Gras kan dannes assosiasjoner (pseudosymbiotisk) med frittlevende nitrogenfikserende bakterier i slekten *Azospirillum*, men disse danner ikke nitrogenfikserende knoller. Frittlevende nitrogenfikserende *Azotobacter* er mikroaerobe på grunn av høy respirasjon.

Grampositive aktinomyceiter fra slekten *Frankia* danner nitrogenfikserende symbiose, **aktinorhiza**, med røttene på or (*Alnus*) og pors (*Myrica gale*), og hos *Casuarina* og *Ceanothus*.

## Nitrogenfiksering hos erteplanter og rhizobia

**Rhizobia** er frittlevende gramnegative jordbakterier danner symbiose med arter i erteblomstfamilien (Fabaceae) og *Parasponia* i almefamilien (Ulmaceae), og omfatter slektene *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Photorehizobium* og *Sinorhizobium*. Det dannes ikke nitrogenfikserende noder hvis det er høyt innhold av ammonium og nitrat i jorda. Plantene lager organiske syrer til bakteriene og karbonskjeletter til transport av nitrogen. Bakterier fra slektene *Rhizobium leguminosarum* med **biovarene** *phaseoli*, *trifolii* og *viciae* inngår i nitrogenfikserende assosiasjon med henholdsvis bønner, kløver og erter. *Bradyrhizobium* kan inngå i assosiasjon med *Parasponia* som ikke er en erteplante og *Bradyrhizobium japonicum* og *Sinorhizobium fredii* fikserer nitrogen hos sojabønne. *Azorhizobium* danner symbiose med vannplanten *Sesbania* og *Photorehizobium* danner symbiose med vannplanten *Aeschynomene*.

Nitrogenfikserende bakterier i symbiose med erteplanter kontrollerer oksygentilgangen til nitrogenase via det oksygenbindende proteinet leghemoglobin med høy affinitet for oksygen i rotknollene (nodulene). **Leghemoglobin** ligner mer på myoglobin enn hemoglobin vi har i blodet, og har fått navnet *leg* fra Leguminosae (erteblomstfamilien). Det har en rustbrun farge som kan observeres hvis man knuser de nitrogenfikserende rotknollene mellom fingrene. Plantene lager både hem og proteindelen til leghemoglobin.

Første trinn i infeksjonen er at mikrosymbionten kjenner igjen planten. Flavonoider f.eks lutein utskilles fra røttene hos erteplanter og virker i lave konsentrasjoner som et signal for **kjemotaksis** for frittlevende *Rhizobium*. Flavonoidene stimulerer uttrykk av **noduleringsgener** (*nod*) i *Rhizobium* ved høyere konsentrasjoner av flavonoider nær jordoverflaten. Noduleringsgener kan klassifiseres i vanlige *nod*-gener og vertsspesifikke *nod*-gener. Vanlige *nod*-gener i alle Rhizobia er *nodA*, *nodB* og *nodC*. *nodD* er konstitutivt uttrykt og genproduktet NodD regulerer transkripsjonen av andre *nod*-gener. *nod*-genene lager et kjemisk motsignal kalt **nod-faktorer**. Nod-faktorene er **morfogener** som får planten til å starte et program for dannelse av rotnoder. Nodfaktorene er signalstoffet **lipokitinoligosakkarider** i symbiosen som er oligomere av  $\beta$ -1,4- bundet N-acetylgukosamin bundet til en fettsyre. Disse gir krølling og strekking av rothår, og deling av celler i rotbarken (cortex). Noduleringsgenene *nodA*, *nodB* og *nodC* koder for henholdsvis enzymene *nodA*, *nodB* og *nodC*. (Genet skrives

i kursiv og proteinet det koder for uten kursiv). *nodA* er en N-acetyltransferase som hekter på fettsyreacyl, *nodB* er kitin-oligosakkarid deacetylase som fjerner acetylgruppen fra terminal ikke-reduserende sukker, og *nodC* er kitin oligosakkarid syntase som hekter sammen monomere med N-acetylglukosamin. Vertsspesifikke *NodE* og *NodF* bestemmer lengde og grad av metning av fettsyreacylkjeden. Vertsspesifikk biovar *viciae* lager C18:4 fettsyreacylgruppe og biovaren *melloti* lager C16:2 fettsyreacylgruppe. *nodL* påvirker vertsspesifisiteten til *nod*-faktorene via substitusjon på reduserende og ikke-reduserende sukker i kitin.

Genene i planten som deltar i dannelsen av rotnoduler, nodulorganogenese, kalles **noduliner** (*Nod*).

Induksjonen av noduleringsgener trengs for produksjon av sukkerbindende proteiner, **lektiner**, i rothårene og festing av bakteriene til celleveggen i rothårene. Rhizobia festet til rothår frigir *nod*-faktorer som gir krølling av rothår, og rhizobia blir lukket inne i et kompartiment dannet fra det krøllede rothåret. Planten lager en **infeksjonstråd** som bakteriene kan følge inn i planten. Infeksjonstråden fylles med Rhizobia som deler seg. Infeksjonstråden er en tubulær utvidelse av plasmamembranen i planten laget av fusjon av vesikler fra Golgiapparatet. Infeksjonstråden fylt med rhizobia vokser i spissen ved tilførsel av vesikler. Celler i cortex nær xylem påvirkes av signalstoffer, dedifferensieres og danner et nodulprimordium som utvikler nodulen. Nukleosid-uridin diffunderer fra stele til cortex i protoxylemsoner i rota og stimulerer celledeling. Etylen lages i pericykel og diffunderer inn i cortex og blokkerer celledeling på motsatt side. Greining av infeksjonstråden i nodulen gjør at bakteriene infekterer mange celler. Nodulene får vaskulært vev. I tempererte områder får røttene f.eks. erter lange noduler pga. nodulmeristem, mens tropiske soyabønner og peanøtter mangler nodulmeristem og får runde noduler.

I spesielle nodulceller frigis bakteriene fra infeksjonstråden i plantenes cytoplasma og omgis av en planteavledet membran **peribakteroidmembran= symbiosomembran**.. I løpet av denne prosessen blir bakteriene **bakteroider** som er mange ganger større enn bakteriene og mangler cellevegg. En rotcelle kan inneholde opptil 20.000 bakterioder. På signal fra planten stopper bakteriene å dele seg og diffunderer til de nitrogenfikserende organellene bakteroider. Overgangen fra bakterier til bakterioder er koblet sammen med syntese av leghemoglobin, nitrogenase og andre nitrogenfikserende enzymer. Nitrogenfikseringen starter ca. 10-20 dager etter infeksjonsprosessen ble påbegynt. Det blir lav oksygenkonsentrasjon i nodulene (mikroaerofilt) på grunn av leghemoglobin, gasdiffusjonsbarriere i cortex til nodulene og høy respirasjonsrate i bakteroidene som forbruker oksygen. Bakteroidene mottar dikarboksylysyrer fra planten. Elektronoverføringene gir også mulighet for dannelsen av skadelige oksygenradikaler. Nodulene inneholder enzymene i askorbat-glutathionsyklus som beskyttelse mot skadelige radikaler. Produksjonen av ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) går sakte, men blir kompensert med store mengder nitrogenase, opptil 20% av proteinet i bakteroidene.

Ammonium dannet under nitrogenfikseringen assimileres via enzymene GS/GOGAT. Amid-eksporterende planter finnes i tempererte områder, mens ureid-eksporterende planter har mer tropisk utbredelse. Assimilert ammonium fraktes opp i planten i form av aminosyrene glutamin og asparagin. Planter med mer tropisk utbredelse f.eks.

soyabønne (*Glycine*), peanøtter (*Arachis*), og *Vigna* frakter nitrogen i form av **ureider** som lages fra oksidasjon av puriner. Ureidene kan være allantoin eller allantoin som eksporteres via xylem. Urinsyre omdannes i peroksisomer til allantoin.

Allantoin lages fra allantoin i ER. Citrullin blir laget fra ornithin.

Høyt krav til fosfor gjør at mange erteplanter også har vesikulær-arbuskulær mykorrhiza. Nikkel trengs i hydrogenopptaks hydrogenase. Større mengder nitrat hemmer aktiviteten til nitrogenase. Glutamin har 2N/5C, asparagin 2N/4C, arginin 4N/6C, allantoin og allantoin lages fra allantoin i ER. Citrullin blir laget fra ornithin.

## Svovelasimilasjon

Svovel inngår i svovelaminosyrene cystein og methionin. Disulfidbindinger (-S-S-) i cysteinbro i protein er viktige for den tredimensjonale strukturen til proteiner.

Oksidering av thiolgrupper i to cystein gir en disulfidbinding. Frie -SH grupper kan være viktige for å opprettholde katalytisk aktivitet i enzymer. Det katalytiske sete i enzymet kan også inneholde svovel. Jern-svovelproteiner har en rekke funksjoner i plantene bl.a. elektrontransport. Ferredoksin er en viktig elektrontransportør i plantenes fotosyntese. Svovel finnes også i koenzym (koenzym A) og i vitaminer (biotin (vitamin B<sub>6</sub>), thiamin (vitamin B<sub>1</sub>)). Acetylgruppen til koenzym A (-CO-CH<sub>3</sub>) brukes i Krebs-syklus eller fettsyremetabolismen. Svovel finnes som thiol (merkaptan) i både cystein og koenzym A, og som sulfid i aminosyren methionin. Thioeredoksin inngår i redoksreaksjoner som styrer aktiviteten til enzymer.

Tripeptidet glutathion ( $\gamma$ -glu-cys-gly) er et viktig svovelreservoir og deltar i redoksreaksjoner i cellene og kan også brukes til transport av redusert svovel. Fytochelatinere som kan binde tungmetaller er av formen ( $\gamma$ -glu-cys)<sub>n</sub>-gly) n=2-11. Svovel inngår i sekundærmotabolismen hos planter ved dannelse av glukosinolater (sennepsoljegykosider/sulfamater). Glukosinolatene lagres i vakuolen og hydrolysen er katalysert av **myrosinase** som finnes i noen få celler (myrosinceller) i blad og frø. Ikkeprotein svovelaminosyren alliin (S-allyl-cystein sulfoksid) i hvitløk spaltes av enzymet alliinase når plantevevet skades. Andre eksempler på sulfoksid (RSOR) er methionin sulfoksid og cystein sulfoksid. Brokkoli inneholder svovelforbindelsen sulforafan, som muligens kan motvirke kreft. Det finnes mange eksempler på ikkeprotein svovelaminosyrer i planter f.eks. metylmethionin, djenkolsyre (djenkolbønner *Pithecolobium lobatum*), S-metylcystein, S-propylcysteinsulfoksid og S-metylcystein sulfoksid). Sulfolipider inneholder svovel i oksidert form. S-adenosylmethionin inngår som metyldonor i metyleringsreaksjoner. Både S-adenosylmethionin og metylmethionin er metylsulfoniumforbindelser. Svovelforbindelser gir en karakteristisk lukt fra bl.a. kål og løk. Polysakkaridsulfat og fenolsulfat er eksempler på sulfatester. Cysteinsyre er en sulfonsyre. Svovel har flere stabile oksidasjonsstrinn.

Svovel tas opp av røttene vesentlig i form av sulfat (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Sulfat kan reduseres i røttene eller bli transportert via xylemet til bladene hvor reduksjonen skjer i kloroplastene. Det meste av reduksjon og sulfatassimilasjon skjer i bladene.

Transporten over plasmamembranen er en SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/H<sup>+</sup> symport. Plantene kan til en viss

grad ta opp svoveldioksid (SO<sub>2</sub>) gjennom bladene og bruke det som svovelkilde. Forøvrig er høye konsentrasjoner av SO<sub>2</sub> giftig for plantene. Svoveldioksid danner bisulfitt (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>) i reaksjon med vann og bisulfitt kan hemme fotosyntese.

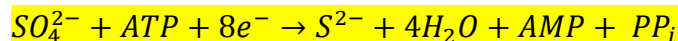
Sulfat kan inkorporeres i **sulfolipider** uten reduksjon, men forøvrig må sulfat reduseres før det kan assimileres inn i organiske forbindelser. Sulfolipider finnes i thylakoidmembraner.

Svovelmangel gir redusert vekst, jevnt blekgule planter (klorose) på unge og eldre blad. Svovel kan til en viss grad retranslokteres via floemet, men er ikke lett remobiliserbar.

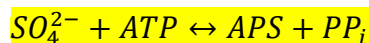
Under anaerobe forhold kan sulfat brukes som elektronakseptor av mikroorganismer og bli omdannet til giftig hydrogensulfid (H<sub>2</sub>S). Det er en biogeokjemisk svovelsyklus. Olje inneholder svovel og ved forbrenning dannes svoveldioksid (SO<sub>2</sub>). Svoveldioksid blir oksidert i atmosfæren til sulfat og er sammen med nitrat dannet fra oksidering av nitrogenoksider en viktig faktor i "sur nedbør".

### Sulfatassimilasjon - svovel inn i organiske forbindelser

Sulfat tas opp i plantene sammen med H<sup>+</sup>, ett molekyl sulfat sammen med 3H<sup>+</sup>, og opptaket er multifasisk (høy- og lavaffinitetssystemer) over et stort konsentrasjonsområde. Sulfattransportørene i membranen kodes av genfamilier. Planter inneholder sulfat permease, et protein med flere løkker gjennom membranen og kation kotransportør. Svovel må reduseres før det kan inngå i organiske forbindelser og i **sulfatreduksjon** trengs det 8 elektroner:



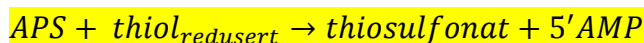
Sulfatreduksjonen er størst i bladene og reguleres både via enzymaktiviteter og transkripsjonsnivå. Sulfid kommer inn i aminosyren cystein som en thiolgruppe. Sulfat er stabilt og må først aktiveres. Første trinnet i sulfatassimilasjonen er aktivering av sulfat (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) med ATP, katalysert av **ATP sulfurylase** som erstatter to av fosfatgruppene på ATP med sulfat og gir adenosin-5-fosfosulfat (APS/5-adenylylsulfat) og pyrofosfat (PP<sub>i</sub>).



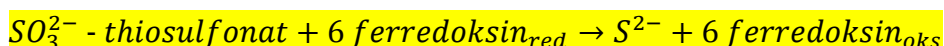
Enzymet som finnes både i cytosol og plastider påvirkes både av lys og reduserte svovelforbindelser f.eks. cystein og redusert glutathion (GSH). Produktet pyrofosfat fjernes med pyrofosfatase og APS blir redusert eller sulfatert for å øke reaksjonshastigheten. ATP sulfurylase kan også aktivere molybdat og selenat. Hos bakterier har ATP sulfurylase GTPase aktivitet, men dette mangler hos eukaryoter. APS kan være substrat for syntese av enten 1) sulfatestere eller 2) inngå i sulfatreduksjon. En alternativ sulfatering av APS i cytosol er katalysert av APS kinase. For syntese av **sulfatestere** vil enzymet **APS kinase** fosforylere APS og lage fosfoadeninfosfosulfat (PAPS) i en ATP-avhengig reaksjon katalysert av **APS kinase**. Fra PAPS overføres aktivert sulfat til en hydroksylgruppe og gir en sulfatester.



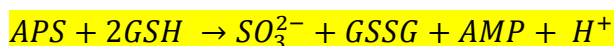
Hos planter og alger er APS sulfatdonor i reduksjonen katalysert av **APS sulfotransferase**, et viktig reguleringsenzym i sulfatreduksjonen. Dette enzymet er også kalt **APS reduktase**. Sulfat overføres fra APS sulfotransferase til en thiolforbindelse som virker som bærer og det dannes et thiosulfonat.



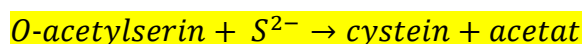
Hvis redusert glutathion (GSH) er bærer vil det dannes S-sulfoglutathion. Overføringen av sulfat til en thiolgruppe gir samtidig reduksjon av sulfat til sulfitt ( $SO_3^{2-}$ ). Den påfølgende reduksjon av bærerbundet sulfitt til sulfid  $S^{2-}$  skjer via enzymet **sulfitt reduktase** eller **organisk thiosulfat reduktase**. Sulfitt reduktase katalyserer reaksjonen:



Redusert ferredoksin er elektrondonor. Hos bakterier er rekkefølgen APS kinase etterfulgt av PAPS reduktase, men hvorvidt dette skjer hos planter er usikkert. En **thiolavhengig APS reduktase** er også mulig:



Siste trinn i sulfatreduksjonen er at sulfidgruppen ( $S^{2-}$ ) overføres til O-acetylserin. O-acetylserin lages fra serin og acetyl-CoA katalysert av **serin acetyltransferase**. O-acetylserin får overført sulfid, og spaltes til acetat og aminosyren cystein, som er det første stabile produkt i sulfatreduksjonen. Trinnet er katalysert av **cystein syntase** (O-acetylserin thiol-lyase).



Svovelgruppen i cystein kalles **thiol** og virker som elektrondonor (nukleofil). Ved biosyntesen av aminosyren methionin ved transsulfurering overføres svovelgruppen fra cystein til homoserin-4-fosfat som omdannes til cystathionin. Methionin kan omdannes til metyldonorene **S-adenosylmethionin** og **metylmethionin** (vitamin U). S-adenosylmethionin kan brukes til å lage plantehormonet etylen og polyaminer.

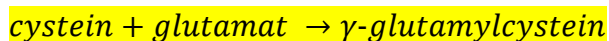
### Syntese av svovelaminosyren methionin

Methionin er en av de nødvendige eller essensielle aminosyrene i ernæringen hos dyr og mennesker. Aminosyren methionin lages fra cystein. Først reagerer cystein med O-fosfomoserin katalysert av cystathionin  $\gamma$ -syntase og produktet er cystathionin. Deretter spaltes cystathionin av enzymet cystathionin- $\beta$ -lyase til homocystein, pyruvat og ammonium. En metylgruppe overføres til homocystein katalysert av methionin syntase. Metylgruppen kommer fra S-metyltetrahydropteroyltriglutamat.

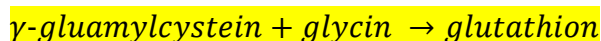


Syntese av tripeptidet glutathion - et reservoir for redusert svovel

Syntesen av tripeptidet **glutathion** (glutamat-cystein-glycin) skjer i to trinn. Først lages glutamylcystein katalysert av  $\gamma$ -glutamylcystein syntetase :



Glycin kobles til i neste trinn katalysert av **glutathion synthase**, et enzym som trenger magnesium.



Det er mye glutathion i kloroplasten, opptil mM konsentrasjoner. Glutathion har en viktig funksjon sammen med askorbat i kloroplasten (askorbat-glutathion syklus). Glutathion er også et viktig lager for redusert svovel og er forkomponent for **fytochelatiner**. Glutathion i redusert form skrives som GSH og som oksidert disulfid GSSG.

Glutathion binder seg til elektrofile stoffer som ugrasmidler og xenobiotika katalysert av enzymet **glutathion S-transferase**. Homoglutathion finnes hos arter i erteblomstfamilien (Fabales) og inneholder  $\beta$ -alanin i stedet for glycin.

Hydroksymetylglutathion finnes i grasfamilien (Poaceae) og inneholder serin i stedet for glycin. Glutathion virker som signalstoff og koordinerer absorpsjonen av sulfat i røtter og assimilasjon av sulfat i skuddet.

## Metallothioneniner og fytochelatiner - svovelproteiner og peptider som binder tungmetaller

Metallothioneniner er svovelrike proteiner med mye cystein og som kan binde tungmetaller. Fytochelatiner er peptider som kan binde tungmetaller og er dannet av aminosyrene cystein, glutamat og glycin ( $\gamma$ -glutamat-cystein)<sub>n</sub>-glycin, n=2-11). Syntesen av fytochelatiner som lagres i vakuolen induseres av tungmetaller.

## Thioredoksiner - aktivering og inaktivering av enzymer

Thioredoksiner er en gruppe lavmolekylære proteiner som inneholder to cystein som danner en redoksaktiv intermolekylære disulfidbro. Thioredoksin kan reversibelt enten oksideres eller reduseres. Redusert thioredoksin aktiverer fruktose-1,6-bisfosfatase og flere enzymer i Calvinsyklus. Både redusert ferredoksin og NADPH benyttes i reduksjon av thioredoksin.

### Camalexin - et fytoaleksin som inneholder svovel

Camalexin er et indolderivat som inneholder en sidegruppe med svovel. Biosyntesen av dette stoffet aktiveres under stressbetingelser.



### Dimetylsulfid fra hav

Alger kan lage dimetylsulfonpropionsyre som når det skilles ut i havvannet kan omdannes til dimetylsulfid som er flyktig og deltar i dannelsen av skyer og således påvirke klima.

Leustek, T. & Saito, K.: Sulfate transport and assimilation in plants. *Plant Physiol.* 120 (1999) 637-643.

## Fosfatassimilasjon

Fosfat behøver ikke reduseres før assimilering inn i organiske forbindelser, i motsetning til nitrat og sulfat. Fosfat tas opp i røttene med  **$\text{HPO}_4^{2-} \text{H}^+$  symport**. Etter å ha blitt tatt opp i plantene som  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  forblir fosfat som uorganisk fosfat ( $\text{P}_i$ , i="inorganic") eller fosfat kan bli forestret til en hydroksylgruppe (CO-P) som en fosfatester eller energirik polyfosfat f.eks. pyrofosfat ( $\text{PP}_i$ ). I mange reaksjoner er fosfat et substrat eller produkt. Vakuolen er lagringssted for ikkemetabolsk fosfat. Fosfor inngår en rekke steder i metabolismen.

Fosfat inngår i nukleinsyrene DNA og RNA. Det er fosfor som gir de sure egenskapene til nukleinsyrene. Fosfatgruppen vil ha negativ ladning ved nøytral pH. Et nukleotid består av en base, sukker og fosfat, og fosfat er bundet til sukker i en esterbinding.

Fosfat inngår i energimetabolismen som sukkerfosfatintermediater i respirasjon og fotosyntese. Hydrolyse av fosfatesterbindingen til fosfat frigir store mengder energi fra høyenergimolekyler. Hydrolyse av ATP katalysert av enzymet ATPase gir ca.  $30 \text{ kJ mol}^{-1}$ . En fosforylgruppe i ATP kan overføres til andre molekyler. Andre energirike fosfatestere er fosfoenolpyruvat ( $-62 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), pyrofosfat ( $-28 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) og glukose-6-fosfat ( $-14 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). ATP lages ved substratfosforylering i respirasjonen eller ved fotofosforylering i fotosyntesen katalysert av enzymet ATPsyntase.

Fosfor inngår i fosfolipider i biomembraner, Fosfodiesterer i form av fosfolipider er vanlig i alle biomembraner f.eks. som fosfatidylkolin (lecithin). Fosfolipidene har en hydrofob hale dannet av to fettsyrer som vender inn i membranen og et hydrofilt hode som vender ut mot cytosol eller stroma.

Fosfor deltar i signaloverføringsveier i metabolismen ved fosforylering og defosforylering av proteiner katalysert av henholdsvis protein kinaser og defosforylaser. GTP og GDP inngår i G-proteiner. Plantene inneholder hundrevis av forskjellige protein kinaser, og opptil 4% av genomet kan være involvert i syntesen. Andre signalmetabolitter er syklisk AMP (cAMP) og syklisk GMP (cGMP), hvorav den sistnevnte er viktigst i planter.

Transporten av triosefosfater ut av kloroplasten skjer via en **fosfattranslokator** i bytte mot fosfat. Fosfattranslokatoren sitter i den indre kloroplastmembranen. Syntesen av stivelse hemmes av høye konsentrasjoner av fosfat. Enzymet for syntese av stivelse i kloroplasten Enzymet ADP-glukose pyrofosforylase som lager stivelse i kloroplastene hemmes av uorganisk fosfat og aktiveres av triosefosfater.

Stivelse fosforylase er et reversibelt enzym i plastider:



**Fytat** er et lager med fosfat og andre grunnstoffer. Fosfat lagres som fytat (fytin) i pollen, frø og korn. Fytat er et kalsium-magnesiumsalt av fytinsyre. Fytinsyre lages fra *myo*-inositol ved at hydroksylgruppene er forestret med fosfat. Fytinsyre (inositol heksafosforsyre) har også høy affinitet til andre grunnstoffer som jern og zink. Fytat spaltes av enzymet fytase. Syntesen av fytat i frø regulerer også stivelsesyntese ved å senke fosfatkonsentrasjonen via reaksjonen med fytat.

## Fosfor i jord og mangelsymptomer

Fosfor er sterkt bundet i jorda, til jern og aluminium i sur jord og til kalsium i mer basisk jord. I moldjord finnes en stor del av fosforreservene i organisk form. Ved dårlig tilgang på fosfat kan planterøttene skille ut enzymet fosfatase til jorda hvor enzymet hydrolyserer organiske fosforforbindelser. Røttene skiller også ut organiske syrer og protoner, og rothårene blir lenger ved fosfatmangel. Mykorrhiza kan lette opptaket av fosfor i røttene.

Ved mangel på fosfor hemmes veksten av skuddet, men rotveksten hemmes ikke i samme grad, slik at det blir økt rotbiomasse på bekostning av skuddet. Fosfat kan reallokeres fra de eldste til de yngste delene av planten via floemet slik at fosformangelsymptomer viser seg først på de eldste bladene som visner og dør. Modning forsinkes. Planter med fosformangel kan bli rødfarget av anthocyanin analogt til nitrogenmangel. De yngste delene av planten har dypgrønn klorofyllfarge, og skiller seg således fra nitrogenmangel hvor plantene blir lysegrønne og klorotiske. Stengelen blir høy og slank, men ikke treaktig.

## Kationassimilasjon

Kationer ( $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^+$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Zn^{2+}$ ) danner ofte koordinerte komplekser med organiske stoffer med elektrostatiske binding mellom positivt ladet kation og negativt ladet organisk molekyl.

I **koordinasjonsbinding** vil flere O- og N-atomer i karbonforbindelser gi udelte elektroner som danner binding med kationer, og den positive ladningen på kationet blir nøytralisert. Kobber, zink, jern, magnesium og mangan blir assimilert som koordinasjonskompleks e.g.  $Mg^{2+}$  med koordineringsbånd med nitrogen og chelatert i klorofyll,  $Cu^{2+}$  i kompleks med tartarsyre.

**Elektrostatiske binding** av kationer skjer ved binding mellom positivt ladete kationer og negativt ladete organiske molekyler f.eks. en syregruppe ( $-COO^-$ ) i reaksjon med  $K^+$ . Ved elektrostatiske binding opprettholdes den positive ladningen på kationet. Imidlertid er mesteparten av kalium osmotisk regulator og enzymaktivator som fritt  $K^+$ .

Magnesium og kalsium kan inngå både elektrostatiske binding og koordinasjonsbinding med aminosyrer, fosfolipider og andre negativt ladete molekyler. Kalsium ( $Ca^{2+}$ ) i danner elektrostatiske binding med polygalakturonsyre i pektin i cellevegg. Det er egne ZIP-transportører som frakter jern, mangan og zink, mens

andre frakter kobber og molybden. Mye fritt jern eller kobber kan gi opphav til reaktive oksygenforbindelser. Parenkymceller i xylemet deltar i innlasting av kationer i xylemet.

## Magnesium

Magnesium er et makronæringsstoff som tas opp av plantene som  $Mg^{2+}$ , et toverdige kation (gr. *magnesia*). Magnesium hører sammen med kalsium til jordalkaliemetallene i det periodiske system. Opptaket av magnesium hemmes av andre kationer som kalium ( $K^+$ ), ammonium ( $NH_4^+$ ), kalsium ( $Ca^{2+}$ ) og mangan ( $Mn^{2+}$ ). Tørrstoffet fra planter inneholder fra 0.1-0.8 % magnesium. Magnesium er bundet som et chelat i sentrum av tetrapyrollkjernen i klorofyll. Innsettingen av magnesium i porfyriinstrukturen katalyseres av enzymet magnesium chelatase. Når klorofyll brytes ned til feofytin fjernes magnesium, katalysert av magnesium dechelatase. Magnesium kan inngå ionebinding med sterkt nukleofile ligander som fosforylgrupper. I alle enzymreaksjoner som bruker ATP er det derfor vanligvis Mg-ATP som er substratet. Pektin i celleveggen binder magnesium, og magnesium kan lagres i vakuolen. Magnesium aktiverer enzymer i respirasjon og fotosyntese og deltar i syntese av DNA og RNA. Fotosynteseenzymet rubisko trenger magnesium, noe som øker binding av karbondioksid. Magnesium er nødvendig for sammenkobling av enhetene i ribosomer. RNA polymerase og fruktose-1,6-bisfosfatase er eksempler på enzymer som behøver magnesium for å ha maksimal katalytisk aktivitet.

Magnesiummangel kan opptre i mange økosystemer, spesielt på sur torvjord og jord som inneholder mye grus og sand. Magnesium er relativt lite transporterbart når det har kommet inn i planten. Mangelsymptomene viser seg som klorose mellom grønne bladnerver, først i eldre blad. Ved alvorlig magnesiummangel blir bladene gulhvite og det skjer prematur bladavkasting. Skiller seg fra jernmangel ved at det dannes nekrotiske flekker på bladene. Om våren kan rødbrun farge på unge ikke utviklete blad skyldes midlertidig magnesiummangel ved oppbyggingen av klorofyll. Slik rødfarge kan imidlertid også skyldes anthocyaniner. Kunstgjødsel (mineralgjødsel) inneholder magnesium og andre viktige magnesiumkilder er dolomitt, dolomittkalk, kieseritt og magnesitt.

## Kalsium

Kalsium er et makronæringsstoff som tas opp som  $Ca^{2+}$ . Kalsium deltar i dannelsen av ny cellevegg, midtlamell, mitotisk spindel og cellemembran. Kalsium bindes til celleveggene og pektin i midtlamellene, og stimulerer opptaket av både kationer og anioner over membranene. Membraner blir stabilisert ved at kalsium virker som brobygger mellom fosfat og karboksylatgrupper i fosfolipider. Kalsium er bundet i utbyttbar form til syregrupper. Kalsium finnes også bundet til oksalsyre i blad og barnåler. Forøvring kan kalsiumoksalat finnes i krystallceller i stamme og greiner. Kalsium virker som et signalstoff (budbringer) i metabolismen. Kalsium er med å regulerer cytoskjelett og polaritet i cellen. F.eks. kan man se endringer og økt konsentrasjonen av kalsium der pollenslangen vokser ut av pollenkorset.

Konsentrasjonen av kalsium er vanligvis lav i cytosol, mindre enn mikromolare konsentrasjoner. Ekstracellulært i celleveggen og i reaksjonsrom omgitt av membraner, f.eks. vakuoler, finnes kalsium i høye millimolare konsentrasjoner. Den lave konsentrasjonen av kalsium i cytoplasma opprettholdes av  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP-ase. Flere signaloverføringsveier i planter gir et midlertidig økt kalsiuminnhold i cytoplasma ved at kalsiumkanaler åpner. Det økte kalsiuminnholdet er bare kortvarig, siden kalsium raskt blir pumpet tilbake til sitt opprinnelige reservoar. Kalsium er en sekundær budbringer, fritt eller bundet til proteinet **calmodulin** i cytosol, som er nødvendig for mange responser som indueres av kalsium. Calmodulin består av 148 aminosyrer og har bindingssteder for fire kalsiumioner. Kalsium-calmodulin komplekset påvirker andre enzymer som bl.a. protein kinaser som kobler fosfat til serin eller threonin, samt protein fosfatase. **Kinesiner** er en gruppe proteiner i gruppen mikrotubuli motorproteiner som kan samvirke med calmodulin i en kalsiumavhengig reaksjon. Kalsium trengs for å danne sekretoriske vesikler som kan sammensmelte med plasmamembranen via eksocytose. Utskillelse av karbohydratslim fra rothetta avhenger av kalsium. Det samme gjelder utskillelse av kallose. Produksjonen av  $\alpha$ -amylase ved spiring av korn aktiveres av kalsium og gibberellin. Studier av konsentrasjonen av kalsium i cellene kan gjøres med det kalsiumfølsomme luminiserende proteinet **aequorin** isolert fra en manet. Tobakksplanter har blitt transformert med et gen for apoproteinet til aequorin under kontroll av 35S promoteren fra blomkålmosaikkvirus. Med et luminometer ble det mulig å måle når kalsiuminnholdet i cellene endret seg. Dette skjedde bl.a. ved flere stresstilstander som lav temperatur og ved soppangrep. Kalsium kan ikke flyttes fra eldre til yngre deler av planten via floemet. Kalsiummangel viser seg først på de yngste delene av planten hvor skuddmeristemene etterhvert vil dø. Klorose, nedovernøyde deformerte blad, brune og korte greinete røtter, forkrøplet vekst og prematur død av meristem er andre symptomer på kalsiummangel. Strontium ( $\text{Sr}^{2+}$ ) og barium ( $\text{Ba}^{2+}$ ) kan i noen tilfeller erstatte kalsium. Kalsium og svovel kan bindes som  $\text{CaSO}_4$  (gips). Glutamat-reseptorer deltar i glutamatindusert opptak av kalsium.

## Kalium

Kalium er et makronæringsstoff som tas opp av plantene som  $\text{K}^+$ , et hydratisert enverdig kation. Kaliumkarbonat fra forbrenning av trevirke ble kalt pottaske. Natriumkarbonat (soda) fra saltsjøer i Egypt ble, sammen med pottaske (begge kalt niter), brukt til å lage såpe fra fett. Pottaske virker alkalisk og man klarte etterhvert å isolere en basisk kaliumforbindelse som ble kalt *alcali vegetabile* eller *kali*. Natriumsaltet ble kalt *alcali minerale* eller natron. Kjemikeren Humphry Davy greide i 1807 å isolere både natrium og kalium, og kalte de nye grunnstoffene henholdsvis sodium og pottasium (fra pottaske), som er de engelske navnene idag. Gruppen med kalium og natrium i det periodiske system ble kalt alkalimetaller.

Mengden kalium i tørrstoffet i planter kan være opptil 5.5%. Det er høye konsentrasjoner av kalium i celler, opptil 0.2 molar konsentrasjon, og kalium er et viktig osmotisk stoff i planter som deltar i osmoregulering. Flere enzymer aktiveres av høye konsentrasjoner med kalium. Eksempler på prosesser hvor kalium deltar er spalteåpningsbevegelser, nastier og floemtransport. Kalium er lett flyttbart i planten.

Opptak av  $K^+$  fra ytre lave konsentrasjoner utenfor røttene følger vanlig metningskinetikk, men er det høye ytre kaliumkonsentrasjoner er opptaket lineært og lite følsomt for metbolismehinhibitorer, noe som indikerer ionetransport gjennom kanaler. Mangel på kalium viser seg på de eldste bladene som blir slappe, klorotiske og får nekrotiske flekker i spiss og kanter på blad og mellom ledningsstrenger. Kaliummangel gjør at bladene krøller seg. Stenglene blir korte, slanke og svake med korte internodier, og korn blir lett utsatt for legde og rotråtesopp ved kaliummangel.

Kalium hører med til alkaliemetallene sammen med rubidium (Rb) og cesium (Cs). Både rubidium og cesium kan tas opp av samme opptakssystem som kalium. Fra atombombeprovsprenghninger i atmosfæren og kjernekraftulykker (Tsjernobyl), kom det store mengder radioaktivt cesium bl.a.  $^{137}\text{Cs}$  med halveringstid 30 år. Cesium bindes sterkt i jorda og kan gradvis gjøres tilgjengelig for plantene. På denne måten kommer radioaktivt cesium inn i plantene og følger næringskjedene. Opptaket av radioaktivt cesium blir størst i næringsfattige utmarksområder med lite kalium.

Det finnes en rekke  $K^+$  selektive kanaler som frakter kalium inn eller ut av celler, for eksempel ved åpning og lukking av lukkecellene i spalteåpningene. Det er kanaler for opptak av kalium fra jorda inn i røttene, transport av kalium inn i xylen, eller opptak av kalium i pollen og vekst av pollenslanger. Transport av  $K^+$  kan skje ved KUP/HAK/KT-familien.

## Jern

Plantene tar opp jern fra jernoksider i jorda. De fleste organismene i en oksygenatmosfære har vanskeligheter med å ta opp jern, og inneholder derfor en eller flere typer jernbærere (sideroforer). Jern heter *ferrum* på latin. Mangelsymptomene viser seg som anemi hos mennesker og klorose hos planter. Satt litt på spissen kan man si at den organismen som behersker jernreservoaret i et økosystem vil være den dominerende organismen. Jern er et transisjonsmetall, endrer lett oksidasjonsnivå og er derfor en viktig elektrontransportør i redoksreaksjoner i biologiske systemer. Jern i ioneform finnes som en redusert form  $\text{Fe}^{2+}$  (ferro, Fe(II)) eller en oksidert form  $\text{Fe}^{3+}$  (ferri, Fe(III)). I vann oksideres  $\text{Fe}^{2+}$  til  $\text{Fe}^{3+}$  lettere jo mindre sur løsningen er. Den lave konsentrasjonen av jern i en oksygenatmosfære skyldes det lave **oppløselighetsproduktet** for treverdige jern.

Jern kan lagres bundet til et protein kalt **fytoferritin** som finnes i ledningsvev, i plastider og frø. Fytoferritin har et kuleformet proteinskall med 24 like subenheter, og inne i kula er det 5400-6200 Fe bundet som jernoksid-fosfatkompleks. Mesteparten av jern finnes bundet til hem og cytokromer. Ferrochelataase er enzymet som plasserer  $\text{Fe}^{2+}$  i tetrapyrrolringen i porfyrinringen som brukes til å lage cytokromer. Jern finnes også bundet til cysteinsvovel som  $\text{Fe}_2\text{S}_2$  i proteiner. Cytokromer og jernsvovelproteiner er viktige i redoksystemene i kloroplast og mitokondrier. Jern finnes i enzymene nitrat reduktase, nitrogenase, aconitase, ACC-oksidasase, katalase, jernsuperoksid dismutase (Fe-SOD), lipoksygenase og peroksidase. Leghemoglobin, som brukes til å regulere oksygenkonsentrasjonen ved nitrogenfiksering i erteplanter, inneholder også jern. Jern trengs for å lage klorofyll. Jernmangel har mindre effekt på

bladvekst og celleantall, men har stor effekt på størrelsen av kloroplaster og innholdet av kloroplastprotein.

Plantene benytter flere mekanismer for å øke løseligheten og tilgjengeligheten av jern til røttene. Plantene kan respondere på jernmangel ved å lage sideroforer eller ved å senke pH i rotsonen. Bakterier kan skille ut **sideroforer** som inneholder **hydroksamater** (-CONOH), bl.a. i form av sykliske peptider, som binder jern meget sterkt. Sideroforene plukkes deretter opp av bakteriene, jern blir redusert fra treverdig til toverdig jern som løsner fra sideroforen, og deretter skilles sideroforen ut igjen for å ta opp mer jern. Mennesker bruker sideroforen transferrin i blod og laktoferrin i morsmelk og tårer. Plantene inneholder **fytosideroforer** som binder jern. Eksempler på slike er iminokarboksylysyrer hos kornslagene (avensyre, mugineinsyre, nikotianamin). Fenoler kan også brukes som sideroforer.

Lavere pH og forsuring øker tilgjengeligheten av jern i betydelig grad. Treverdig jern kan reduseres til toverdig på plasmamembranen katalysert av Fe(III) reduktase eller Fe(III)chelater reduktase. Jern kan også reduseres ekstracellulært ved hjelp av NADPH. **Chelater** danner løselige komplekser med kationer (Fe, Ca) bundet med ionekrefter som f.eks. jern i chelatene Fe-citrat eller Fe-tartrat. Inne i planten finnes jern bundet til chelater bl.a. sitronsyre. I næringsløsninger kompleksbindes jern i et Fe-EDTA-chelat (EDTA-etylendiamin tetraeddiksyre) eller Fe-DTPA (DTPA-dietylentriaminpentaeddiksyre, pentensyre).

Under anaerobe forhold virker jern giftig på grunn av det høye oppløselighetsproduktet for ferrojern (Fe(II)). Hos sumpplanter fraktes oksygen ned til røttene via aerenkym og skadelig jern(II)forbindelser oksideres på utsiden av røttene til uoppløselig jern(III)forbindelser. Fe<sup>2+</sup> kan ikke forekomme fritt i planten siden denne formen av jern vil kunne gi toksiske effekter via Fenton-reaksjoner og Haber-Weiss-reaksjoner. Fe<sup>2+</sup> bundet til et chelat vil f.eks. kunne gi en rent kjemisk hydroksylering og oksidativ dekarboksylering av benzosyreforbindelser. Humussyrer kan kompleksbinde jernoksider i vann. Jernoksidene kan deretter fororedures på overflaten av algeceller i vannet. Jernmangel på planter viser seg på de yngste bladene som blir klorotiske, men ledningsvevet kan beholde grønnfargen. I motsetning til magnesiummangel dannes det sjelden nekrotiske flekker på bladene.

Surjordsplanter (calcifuge) har mindre evne til å ta opp fosfor og jern enn kalkplanter (calcicole). Calcicole planter skiller ut mye sitronsyre og oksalsyre fra røttene som letter jernopptaket. Sitronsyre, malat (eplesyre), fenoler og piscidinsyresyre danner stabile chelater med jern.

## Mangan

Mangan er et mikronæringsstoff som tas opp av plantene som Mn<sup>2+</sup>. Mangan finnes i flere oksidasjonstrinn, hvor II og IV er mest stabile. Flere enzymer aktiveres av mangan, bl.a. dekarboksylase og dehydrogenase i Krebs-syklus. Mangan kan i mange tilfeller erstatte magnesium og vice versa. Mangan bindes sterkere til ATP enn magnesium. Fotosyntesekomplekset i fotosystem II trenger mangan for å kunne spalte vann. Enzymet superoksid dismutase (SOD) finnes i flere former, og MnSOD i



mitokondriene trenger mangan.

Manganmangel gir små brune nekrotiske flekker på unge eller fullt utviklede blad avhengig av art og vekstrate, og brunfargen kommer fra oksiderte polyfenoler. Manganmangel på korn gir lysflekksyke, en form for klorose. Sur jord eller anaerobe forhold kan gi økt tilgjengelighet av mangan og manganforgiftning. Det finnes økende mengder radioaktivt technesium langs norskekysten, fra fabrikker som gjenvinner brukt reaktorbrensel. Technesium, et grunnstoff som bare finnes kunstig fremstilt, tas sannsynligvis opp av alger med samme opptakssystem som for mangan.

## Kobber

Kobber ( $\text{Cu}^{2+}$ ) er et mikronæringsstoff, men i høyere konsentrasjon er kobber svært giftig for plantene.  $\text{Cu}^{2+}$  i høye konsentrasjoner kan erstatte andre metaller i metallproteiner, eller det kan reagere med SH-grupper på proteiner.

Kobber er et av transisjonsmetallene (overgangsgrunnstoffene) og mesteparten av kobbers funksjoner er koblet til redoksreaksjoner og elektrontransport hvor  $\text{Cu}^+$  og  $\text{Cu}^{2+}$  inngår i reversibel oksidasjon og reduksjon. Kobber tas opp av plantene som  $\text{Cu}^{2+}$ . Kobber har høy affinitet til peptider og sulfhydrylgrupper, karboksylsyrer og fenoler, slik at kobber er oftest bundet som chelat. Konsentrasjonen av fritt kobber i planten er svært lav. Kobberproteiner kan ha blå farge f.eks. plastocyanin som deltar i elektrontransporten i fotosyntesen. Andre eksempler på kobberproteiner er:

- 1) CuZn-superoksid dismutase som omdanner superoksidanionradikaler til hydrogenperoksid.
- 2) Askorbat oksidase som overfører askorbat til dehydroaskorbat.
- 3) Cytokrom oksidase som er den terminale elektrontransportøren i mitokondriene.
- 4) Fenol oksidase som katalyserer oksygenering av fenoler. Oksidasene hydroksylerer monofenoler til difenoler og oksiderer difenoler til o-kinoner. Fenoloksidasene får navn etter sitt viktigste substrat f.eks. monofenoloksidase, polyfenoloksidase, fenolase, og tyrosinase. Polyfenoloksidaser deltar i biosyntese av lignin og alkaloider og danner brunfargede melaninforbindelser f.eks. ved såring i eple og potet. Polyfenol oksidase oksiderer monofenoler til O-difenoler, og dihydroksyfenoler til O-kinon. Kinoner kan polymerisere og reagere med aminosyregrupper i proteiner og gi brunfargete produkter, som i noen tilfeller kan virke som fytoaleksiner. Fenolene finnes i vakuolen, mens polyfenoloksidase finnes i cytoplasma eller plastider, f.eks. i amyloplaster i poteter. Det er også mulig at kobber kan delta i dannelsen av hydroksylradikaler fra superoksid og hydrogenperoksid på samme måte som for jern i en Fenton-reaksjon.  $\text{Cu}^{2+}$  kan også hemme elektrontransporten i fotosyntesen.
- 5) Laccase. Japansk lakktre (*Rhus vernicifera*) inneholder laccase og stellacyanin. Mørkfaring og herding av saften fra treet skjer vha. laccase som omdanner oksygen til vann.

Kobbermangel gir mørkegrønne blad med nekrotiske flekker i spissen av unge blad, som etter hvert brer seg til basis og kanter. Bladene er vridd og misformet og det skjer prematur bladavkasting.



## Zink

Zink tas opp som  $Zn^{2+}$ , eller som  $ZnOH^+$  ved høyere pH. Zink kan bindes til syrer eller forekomme fritt. Zink deltar ikke i redoksreaksjoner på samme måte som jern, kobber og molybden. Eksempler på enzymer som inneholder zink er karbon anhydrase, karboksypeptidase, alkohol dehydrogenase, CuZn-superoksid dismutase, fosfolipase, alkalisk fosfatase, RNA-polymerase og pyrofosfatase. Zink deltar også som en strukturkomponent i ribosomene og i fotosyntese. Zink-fingerproteiner er viktige transkripsfaktorer som inneholder domener spesielt rike på aminosyrene cystein og histidin og som binder seg til DNA. Zink kan bindes til fytinsyre. Zink bindes til aluminiumsilikater (leire) og kalsiumkarbonat i jorda og det kan oppstå zinkmangel i kalkrik jord, såkalt kalkklorose, som også skyldes jernmangel. Store mengder fosfor kan også gi zinkmangel. Mangel på zink gir dvergvekst med korte internodier, rosettvekst, små forkrøplete vridde blad, bladkant med rynkede utseende og skuddet dør ved sterk mangel. Ved zinkmangel lages det ikke nok IAA. Zinkmangel gir klorose mellom ledningsstrengene i eldre blad, som omdannes til hvite nekrotiske flekker. Nekrose er en sekundæreffekt.

## Nikkel

Nikkel er kjemisk relatert til jernmetallene kobolt og jern. Nikkel er et mikronæringsstoff og tas opp som  $Ni^{2+}$ . Enzymet urease som spalter urea er et nikkelenzym. Nikkel finnes i nitrogenase hos prokaryoter. Nikkel deltar i regenerering av hydrogen som et biprodukt ved biologisk nitrogenfiksering via hydrogenopptak dehydrogenase. Nitrogenmangel gir akkumulering av urea og nekrose i bladspisser.

## Molybden

Molybden er et transisjons-element (overgangsgrunnstoff) og mikronæringsstoff som foreligger som mest stabil form av molybdat ( $MoO_4^{2-}$ ) i oksidasjonstrinn +6. Molybden finnes i jorda i oksidasjonstrinn +2 til +6. I anaerob jord finnes molybden i oksidasjonstrinn +4. Det kan være lite molybden i sur jord, men mye i basisk.

Molybden finnes i enzymer i oksidasjonstrinn +4 og +5. Egenskaper ligner på sulfat og fosfat  $HPO_4^{2-}$

Bortsett fra bakteriell nitrogenase er molybden bundet til et **pterin** (molybdopterin) i flere enzymer som:

- 1) Nitrat reduktase som katalyserer første trinn i reduksjonen av nitrat til nitritt.
- 2) Xanthin dehydrogenase som deltar i katabolismen av puriner.
- 3) Aldehyd oksidase som katalyserer det siste oksidasjonstrinnet i biosyntesen av indoleeddiksyre og abscisinsyre.
- 4) Sulfitt oksidase som katalyserer dannelsen av sulfat.

Andre eksempler på molybdenenzymer er dimetylsulfoksid reduktase og biotin sulfoksid reduktase.

Dette er enzymer som deltar i redoksreaksjoner.

Molybdenmangel hos planter gir de samme symptomene som nitrogenmangel med

bl.a. klorose mellom bladnerver og nekrose på eldre blad. Molybdenmangel i blomkål og brokkoli gir ikke-nekrotiske blad som vrir seg og dør. Molybdenmangel gjør at blomsterdannelse hindres eller at det skjer tidlig blomsteravkasting.

Molybden ble oppdaget av den svenske kjemikeren Carl Wilhelm Scheele i 1778. Molybdenglans (molybdenit,  $\text{MoS}_2$ ), som minner om grafitt, har det blitt brutt fra Knaben gruver i Vest Agder siden 1885, men driften ble avsluttet i 1973. *Molybdaena* (gr. *molybdos*) var tidligere det latinske samlenavn på stoffer (bly, blyglans, molybdenglans) som ga svart farge. Reduksjon av molybdat gir molybdenblått.

Zimmer, W. & Mendel, R.: *Molybdenum metabolism in plants*. Plant Biol. 1 (1999) 160-168.

## Bor

Bor hører med i metallgruppen sammen med silisium og germanium. Det vanligste oksidasjonstallet er III, men bor har egenskaper som ligner på silisium. Bor befinner seg på grensen mellom metall og ikke-metall. Borsyre er en svak syre og i vannløsning  $\text{pH} < 7$  er den udisosiert som borsyre,  $\text{B}(\text{OH})_3$ , ved høyere  $\text{pH}$  blir den et borat ion,  $\text{B}(\text{OH})_4^-$ . Bor spiller en viktig rolle ved dannelsen av celleveggen, deltar i celledeling, syntese av nukleinsyrer, hormonrespons og membranfunksjon. Bor har begrenset bevegelighet i floem og mangelsymptomer vil vise seg på de yngste bladene. Imidlertid har planter som frakter fotosynteseprodukter i form av sorbitol evne til å frakte bor i floemet som et kompleks bor-sorbitol.

Bor deltar i vekst av pollenslanger, og bormangel vil således gi redusert dannelse av frø og frukt. Hvis det er mye nedbør kan bor vaskes ut som borsyre fra jorda. Ved høy  $\text{pH}$  minsker tilgangen på bor. Bormangel gir svart nekrose i unge blad og endeknopper. Bormangel gjør stengelen stiv og sprø. Redusert apikal dominans med en mer greinete plante, men endeknoppene blir nekrotiske pga. stopp i celledelingen. Brune indre områder i kålrot (kjerneråte/vattersott), jordstengler, og røtter som resultat av nedbrytning av indre vev, samt intern kork i eple er symptomer på bormangel. Symptomer på bormangel kan forveksles med kalsiummangel.

## Klorid

Plantene tar opp klor i form av klorid ( $\text{Cl}^-$ ). Klorid virker som motion for kationer, danner lettløselige salter, og noen enzymer trenger klorid for å kunne fungere optimalt. Klorid deltar i vannspaltingen i fotosystem II i fotosyntesen. Klorid inngår relativt sjelden i naturlige organiske forbindelser hos landplanter, men det finnes klorindolauxiner. Klorid deltar i celledeling i skudd og røtter. Det er sjelden kloridmangel under naturlige forhold. De fleste planter absorberer mer klorid enn det som er nødvendig for optimal vekst. Toksiske virkninger av natriumklorid kan komme fra saltsprutpåvirkning fra hav, eller ved vintersalting av veier.

I alger og planter som vokser i havet forekommer det organiske forbindelser som inneholder halogener som bromid, klorid og jodid. Hos pattedyr finnes jodid i

hormonet thyroxin. Antropogene organiske klorforbindelser er stabile, ofte giftige og skaper miljøproblemer.

## Natrium

De fleste planter trenger ikke natrium, men C4- og CAM-planter bruker natrium i fotosyntese og regenerering av fosfoenolpyruvat. Natrium deltar i vekst og celleekspansjon hos saltplanter, og natrium kan i visse tilfeller erstatte kalium. Det er generelt lav konsentrasjon av natrium i planter, sammenlignet med dyr. Herbivore dyr får derved mangel på natrium, noe det kan bøtes på ved utsetting av saltslikkestein. Natriummangel hos disse plantene gir klorose, nekrose og redusert blomstring. Natrium fraktes ut av cellene via  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport. Høye konsentrasjoner av natriumklorid ( $\text{NaCl}$ ) fra sjøsprøyt eller veisaltning dreper trær, noe man lett ser lett om våren etter løvsprett ved å kjøre langs hovedveiene i Norge.

## Kationtransport og molekylærbiologi

Det finnes 56 kjente gener i vårskrinneblom (*Arabidopsis*) som koder for kationtransportører i plasmamembran, tonoplast og intracellulære membraner. Noen av dem er selektive som kaliumkanaler hvor det finnes fire hovedtyper:

- 1) **Shaker-kanal** (etter en mutasjon i genet for en kaliumkanal i bananflue (*Drosophila*) som får fluene til å skjelve). Shaker-kanaler er innover- eller utoverrettet og deltar i kaliumopptak fra jorda, høyaffinitetsopptak av kalium i pollen og innfluks og effluks av kalium i lukkeceller. Shaker-kanaler er spenningsregulerte.
- 2) **cGMP og cAMP regulerte kationkanaler** som er lite spenningsavhengige og som er permeable for  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  og  $\text{Na}^+$ . Disse deltar bl.a. i sykdomsresistens.
- 3) **Glutamat reseptorkanal** som er homologe med glutamatstyrte kationkanaler hos dyr. Glutamat reseptorkanaler er  $\text{Ca}^{2+}$  permeable kanaler, og glutamat induserer opptak av  $\text{Ca}^{2+}$  i planteceller.
- 4) **To poredomene kanaler** (TPC) som er en kanal som finnes i tonoplast og er permeabel for  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  og andre kationer. TPC1 i *Arabidopsis* har en spesiell funksjon i lukking av stomata ved høy ytre konsentrasjon av kalsium.

$\text{H}^+$ ATPase aktiveres av lys, hormoner og patogener og er regulert via autoinhibitorisk domene i C-terminal ende via protein kinase/fosfatase. Fosforylering av enzymet rekrutterer ubiquitin enzymmodulerte proteiner, 14-3-3 protein som bindes til fosforylert region og forflytter autoinhibitorisk domene slik at  $\text{H}^+$ ATPase blir aktiv.

## Oksygenassimilasjon

Oksygen som et resultat av spaltningen av vann i fotosyntesen danner grunnlaget for utviklingen av de fleste av artene som lever på jorda. Oksygen deltar i celleåndingen (respirasjonen) ved å motta elektroner, og gir mulighet til å frigi store mengder energi ved oksidasjon av organiske molekyler. Respirasjon utgjør 90% av assimilert oksygen

i planter. Oksygen fra vann inngår i organiske stoffer i overgangen fra det ustabile C6-komplekset i rubisko hvor det dannes to molekyler 3-fosfoglycersyre.

Oksygen kan assimileres ved direkte reaksjon med organiske molekyler katalysert av **oksygenaser**. Rubisko inneholder også oksygenaseaktivitet.

Oksygenaser deles i to hovedgrupper avhengig av hvor mange oksygenatomer som overføres: monooksygenase som overfører ett oksygenatom og dioksygenase som overfører to.

**Monooksygenase** tilfører ett av oksygenatomene inn i en karbonforbindelse og det andre oksygenmolekylet blir til vann.

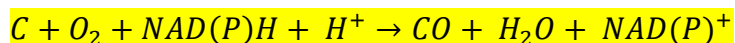


Hvor *A* er organisk stoff, og *B* er elektrondonor.

Monooksygenaser blir også kalt "mixed-function" oksidaer (MFO). MFO i endoplasmatisk retikulum oksiderer monoterpener, diterpener, samt fettsyrer.

Monooksygenaser trenger NAD(P)H som elektrondonor.

En gruppe monooksygenaser kalles cytokrom P<sub>450</sub>.



Et eksempel er cytokrom P<sub>450</sub> hydroksylering av cinnamat som omdannes til p-koumarsyre. Oksygen er først bundet til jern i hem.

**Dioksygenase** inkorporerer begge oksygenatomene i dioksygen i en eller to karbonforbindelser. Ekstensin i celleveggen inneholder mye av aminosyren hydroksyprolin som lages fra aminosyren prolin ved hydroksylering katalysert av prolyl hydroksylase i endoplasmatisk retikulum og som trenger jern og askorbinsyre som kofaktorer, en dioksygenase. Hydroksyleringen skjer etter at prolin er satt inn i protein.

Lipoksygenase er en dioksygenase som tilfører to oksygenatomer til umettede fettsyrer.

2 · 10<sup>11</sup> tonn oksygen frigis årlig til atmosfæren fra fotosyntesen. Oksygenforgiftning skyldes en ubalanse i en finstemt likevekt. Oksygen trengs for å frigir energi og opprettholde liv i en aerob atmosfære.

Reaksjoner som hemmes av oksygen er reduksjonen av nitrogen til ammonium vha. nitrogenase. For ca. 3 milliarder år siden startet en fotokjemisk spalting av vann. Jern hjalp til med avgiftningen av oksygen.

Oksygen er nødvendig i syntese av fettsyrer. Oksygen fungerer ellers som elektronakseptor. Oksidasjon av substratet med oksygen frigir energien. Molekylært oksygen i atmosfæren er **triplett oksygen** og ikke spesielt reaktivt med biologiske substrater, sammenlignet med aktivert **singlett oksygen** som er meget reaktivt og må avgiftes.

## Hydrogen

Hydrogen består av ett elektron med ladning -1, ett proton med ladning +1, slik at atomet er elektrisk nøytralt. Det er tre isotoper av hydrogen.  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$  (deuterium) med ett ekstra nøytron og  $^3\text{H}$  (tritium) med to ekstra nøytroner som er ustabil (radioaktiv) og sender ut  $\beta$ -partikler ved desintegrasjon. Hydrogen bindes til oksygen i vann og danner organiske hydrokarboner sammen med karbon og oksygen. Protonet ( $\text{H}^+$ , hydrogen som har mistet ett elektron) har en fundamental betydning i transport og produksjon av energi i biologiske systemer. Dihydrogen ( $\text{H}_2$ ) er et biprodukt ved nitrogenfikseringen hos prokaryoter. Hydrogen er det grunnstoffet det forekommer mest av i universet. Lavoisier ga den brennbare gassen navnet hydrogene, fra gresk og som betyr vanddanner.

## Silisium

Det var Berzelius som ga grunnstoffet navnet kisel. Det kalles også silisium (l. *silix* - kiselstein). Silisium/kisel finnes som kisel dioksid ( $\text{SiO}_2$ ) og andre silikater. I intercellularrom, cellevegg og ER finnes hydrert silisium  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  I jordløsning som  $\text{Si}(\text{OH})_4$ , ligner på borsyre. Silisiumkomplekser med polyfenoler kan gi styrke alternativt til lignin. Noen planter akkumulerer kisel i større mengder som sneller, bregner og gras inkludert kornslagene. Kisel har betydning for å holde plantene opprett. Skavgras (*Equisetum hiemale*) inneholder mye kisel og har blitt brukt til å skure i gamle dager. Rester av skavgras oppløst i syre undersøkt i sveipelektronmikroskop viser at det er høyt innhold av kisel i spalteåpningene. Kiselalger, som navnet antyder, har skall laget av kisel. Kisel forekommer i plantene som krystaller som ligner på opal, kalt **fytolitter**, laget i spesielle celler bl.a. i epidermis. Høyt innhold av kisel gir beskyttelse mot beitende dyr. Silisiummangel gir mindre styrke, medfører legde, lettere soppinfeksjon og mindre beskyttet mot beiting. Silisium kan gi beskyttelse mot toksiske metaller.

## Andre grunnstoffer

I tillegg til de nødvendige grunnstoffene nevnt finnes det organismer som bruker andre. **Kobolt** inngår i vitamin  $\text{B}_{12}$ , som inngår i metabolismen hos mikroorganismer og pattedyr. Noen alger bruker **vanadium** som kan inngå i enzymet nitrogenase. **Brom** og **jodid** brukes av alger til å lage halogenerte forbindelser som kan virke som allelopatisk, antimikrobielt eller som antibeitestoffer.

## Selen

Planter bruker ikke selen i metabolismen. Planter kan ta opp selen fra selenrik jord og selen erstatter svovel i bl.a. aminosyrer slik at det dannes selenomethionin og selenocystein. Selv om mennesker trenger litt selen til enzymet glutathion peroksidase vil store mengder selen gi giftvirkning hos mennesker og dyr. Selenakkumulatører er vanlig i erteblomstfamilien og vil akkumulere store mengder

selen.

## Aluminium

Selv om aluminium er et vanlig forekommende grunnstoff kan aluminium i sur form danne  $\text{Al}^{3+}$  som er giftig for planter. Surjordsplanter (calcifuge/acidofile) har større evne til å motstå giftige former av aluminium, sammenlignet med planter som trives på mindre sure jordarter. Røttene skiller ut organiske syrer og organiske fosforforbindelser i en mucigel som kan binde og uskadeliggjøre toksisk aluminium. Tilførsel av kalsium eller magnesium kan redusere skadene av aluminiumforgiftning. Generelt vil mose, dødt bladverk og humusforbindelser med syrer som huminsyre og fulvinsyre binde store mengder aluminium.

Grunnstoffene inngår i jordskorpen, hydrosfæren, atmosfæren og i alle levende organismer (biosfæren). Grunnstoffer som har inngått i biosfæren kan finnes fossilt som kull, olje, hydrokarbongass, og kalkavleiringer. Tabellen nedenfor viser de 9 vanligst forekommende grunnstoffene i på jorda:

	Vekt (%)	Antall atomer (%)
Oksygen (O)	49.4	55.1
Kisel (Si)	25.8	16.3
Aluminium (Al)	7.5	5.0
Jern (Fe)	4.7	1.5
Kalsium (Ca)	3.4	1.5
Natrium (Na)	2.6	2.0
Kalium (K)	2.4	1.1
Magnesium (Mg)	1.9	1.4
Hydrogen (H)	0.9	15.4

## Tungmetaller og giftige grunnstoffer

Tungmetaller, spesielt i d-blokken i det periodiske system, finnes i jordsmonn mange steder. Enten som forurensning eller naturlig forekommende f.eks. serpentinjord.

Serpentin inneholder mye magnesium og nikkel og gir dårlig vekst. Fra gammelt av er det kjent at noen planter, kalt **metallofytter**, kan vokse på jord med høyt innhold av tungmetaller f.eks. fjelltjæreblom (*Lychnis alpina*) på kobberholdige slagghauger. *Hybanthus floribundus* i fiolfamilien vokser på nikkelholdig jord i Australia. Adaptasjon til tungmetaller kan være å stenge tungmetallene ute eller ha intern toleranse. Hyperakkumulerende planter kan akkumulere tungmetaller.

Noen av tungmetallene fungerer som mikronæringsstoffer (kobber (Cu), jern (Fe), mangan (Mn), nikkel (Ni), zink (Zn)), men små konsentrasjoner ut over naturlige verdier virker toksisk. Andre tungmetaller som kadmium (Cd), bly (Pb), arsen (As), kvikksølv (Hg), krom (Cr) og sølv (Ag) inngår ikke i metabolismen, men kan bli tatt opp og virker toksisk. Mange av tungmetallene danner tungtløselige sulfider, og kan binde seg til enzymer og blokkere disse. Store mengder kobber og jern virker som redoksforbindelser og kan danne giftige radikaler og ig fettstofferperoksidiseringer. Det finnes tungmetalltolerante (metallresistente) arter som vokser på slagghauger og olivin. Tungmetalltolerante arter kan holde tungmetallene på utsiden av røttene ved at de bindes i celleveggene. Hyperakkumulerende planter kan lagre tungmetaller i vakuoler eller trikomer. Tungmetaller kan bindes og uskadeliggjøres av **metallothioneiner** og **fytochelatin**. Jord som inneholder mye tungmetaller kan renses ved å fjerne det øverste jordlaget. Det har vært arbeidet med fytoekstraksjon hvor man bruker **tungmetall hyperakkumulerende** planter som tolerer og akkumulerer høye konsentrasjoner med tungmetaller. En art som har vært brukt er vårpengeurt (*Thlaspi caerulescens*), men et av problemene er at planten er saktevoksende og det lages lite biomasse. En vannhyasinth (*Eichhornia crassipes*) i familien Pontederiaceae har blitt brukt til å fjerne tungmetaller fra ferskvann. En type kvein (*Agrostis tenuis*), sauesvingel (*Festuca ovina*), sølvbunke (*Deschampsia cespitosa*) har økotyper som viser tungmetalltoleranse.

Fluorid gir spesielt skader på bartrær. Fluorid hemmer ATPaser. Plantearter som *Acacia*, *Gastrolobium* og *Oxylobium* kan inneholde fluoroacetat som hemmer sitronsyresyklus, og frø fra *Dichepetalum* kan inneholde fluorofettsyrer.

Ektoenzymer er enzymer som skilles ut fra rota og som påvirker jordsmonnet. Sopp skiller ut ektoenzymer som foretar nedbrytning av substratet soppen vokser på.

## Mykorrhiza

Mer enn 95% av plantene har røtter som lever i symbiose med røttene. Stilksporesopp (risiker, kremler, rørsopp, musseroner, vokssopp, fluesopp, slørsopp, trevlesopp, kantareller), noen barksopp bl.a. gulltråd (*Piloderma croceum*) med gulffargete hyfer, og sekksporesopp (trøfler, enkelte begersopp) er eksempler på mykorrhizasopp. Mykorrhiza finnes hos alle gymnospermene, ca. 83% av de tofrøbladete plantene og ca. 79% av de enfrøbladete. Unntaket er arter i korsblomstfamilien (Cruciferae), meldefamilien (Chenopodiaceae) som har velutviklede knipperøtter, Proteaceae, samt vannplanter. Mykorrhiza er ikke vanlig i tørre områder, i saltjord, oversvømt jord, eller ved ekstremt høy eller lav næringstilgang, ved hydroponikk, og i unge rasktvoksende landbruksvekster. Mye mineralnæring undertrykker mykorrhizainfeksjonen.



Det er to hovedtyper mykorrhiza:

1) **Ektotrof mykorrhiza** hvor sopphyfene danner en skjede eller mantel rundt rota og sopphyfene går mellom cellene i cortex og danner et **Hartig-nett**. Hyfene går ut fra mantelen og ut i jorda. Ektotrof mykorrhiza finnes hos treaktige gymnospermer og angiospermer. De fleste hattsoppene (storsoppene) under trær er fruktlegemet til mykorrhizasopper, en koevolusjon gjennom mange millioner av år. Røttene mangler rothår, hvis funksjon er overtatt av sopphyfene.

Det er omtrent like stor mengde sopp som røtter. Ofte er det sopparter som er lite effektive i nedbrytning av cellulose og hemicellulose som danner ektomykorrhiza.

2) **Endotrof mykorrhiza** hvor sopphyfene går inn i og mellom cellene og danner vesikler eller greinete arbuskler (treformete), og kalles ofte vesikulær-arbuskulær mykorrhiza (VA-mykorrhiza). Det er ingen kompakt mantel, og hyfene går gjennom epidermis og rothår. Hyfene går flere cm ut fra røttene og har sporebærende strukturer. Endotrof mykorrhiza finnes hos de fleste urtaktige planter og er vanlig hos arter i lyngfamilien og orkidéfamilien, og letter opptaket av P, Zn og kobber, i bytte mot fotosynteseprodukter fra skuddet.

## Retranslokasjon av grunnstoffer via floemet

Grunnstoffene fra jorda tas opp i plantene via transpirasjonsstrømmen i xylemet. I ledningsstrengene er xylem (vedvev) og floem (silvev) plassert inntil hverandre. Nær kontakt mellom xylem og floem gjør at grunnstoffer kan forflyttes mellom disse vevene. Flere av grunnstoffene fra skuddet kan retranslokteres tilbake til røttene eller til de yngste delene av planten. En del av de retranslokerte grunnstoffene blir ført tilbake igjen til xylemet i røttene, og på den måten resirkulert i planten. Høyere alder på bladene resulterer i større eksport enn import av grunnstoffer, og det skjer en refordeling og remobilisering av grunnstoffene internt i plantene. For rasktvoksende åkervekster blir remobilisering fra eldre blad til de yngre avgjørende. Hvis næringsmangelsymptomer viser seg først på de yngste bladene tyder dette på lite effektiv remobilisering. Remobilisering av grunnstoffer blir spesielt viktig ved reproduttiv vekst når det skal lages frø, frukt og lagringsorganer. I reproduttiv fase synker innholdet av grunnstoffer i de vegetative delene. Korn har f.eks. høyt innhold av nitrogen og fosfor, og lave konsentrasjoner av kalium, magnesium og kalsium, mens saftige frukter og lagringsorganer ofte har et høyt innhold av kalium, men relativt lite nitrogen og fosfor. Remobiliseringen kan i noen tilfeller være så aktiv at det virker som et selvdestruerende system. Remobilisering av grunnstoffer er vanlig før bladfall om høsten hvor nitrogen, kalium, fosfor og zink retranslokteres aktivt. I natrofober planter er retranslokasjon en måte å holde lave konsentrasjoner av natrium i bladene. I planter hvor nitratreduksjonen skjer i skuddet, må ammonium kunne bli transportert tilbake til røttene. Sirkulasjon av kalium kan være med å skape ladningsbalanse for planter som bruker nitrat som viktigste nitrogenkilde, hvor kalium er et viktig motion for nitrattransporten. Ved frøspiring remobiliseres grunnstoffer fra opplagsnæringen, spesielt kalium, magnesium og kalsium bundet til fytinsyre.

Frigivelsen av fosfat følger aktiviteten til enzymet fytase.

## Kunstgjødning og naturgjødning

### Fordeler og ulemper

Intensivt jordbruk gir ensidig fjerning av mineralnæring fra jorda. Kunstgjødning (mineralgjødning) er en kjemisk og industriell framstilt handelsvare. Få jordtyper inneholder nok næring til å sikre maksimal vekst av høytytende landbruksvekster, og gjødning må tilføres som kunstgjødning eller naturgjødning (**organisk gjødning**) fra planter eller dyr. Planter har ikke behov for å ta opp organisk materiale for å kunne vokse og fullføre livssyklus. Organisk gjødning er organisk stoff fra planter eller sekundært fra fugler eller dyr, og omfatter grønnngjødsling med nitrogenfikserende erteplanter, eller kompost, halm, slam, guano og husdyrgjødsel. Tilførsel av gjødning ved plantedyrking må skje forsiktig og riktig. Hvis ikke vil gjødningstoffene forurense grunnvann, bekker, elver og vassdrag med tilhørende eutrofiering. Erosjon og utvasking av næringsstoffer er to prosesser som følger hverandre. Det er en relasjon mellom avling og mineralnæringsinnhold som kan være i følgende rekke: mangel, tilstrekkelig, kritisk fase med for mye gjødning, og en toksisk fase hvor avlingen reduseres.

Bruk av kunstgjødning og organisk gjødning har fordeler og ulemper. Kunstgjødning krever mye energi i framstillingsprosessen, men er renslig og lett å handtere.

Kunstgjødning er tilsatt fyllstoff som dolomitt eller sand for å gi økt vekt. For å hindre at gjødning "kaker seg" er de granulerte eller prillete gjødningkornene overflatebehandlet med vegetabilsk olje, voks og talkum. Resirkulering av husdyrgjødsel og planteavfall tilbake til plantevekst er, ifølge økologisk tenkemåte, en tilbakeføring av ressurser til jorda. Dårlig varmebehandlet husdyrgjødsel kan gi stor spredning av ugrasfrø og soppsykdommer, og representerer et midlertidig luktproblem. Husdyrgjødsel inneholder lite tungmetaller. Imidlertid kan både slam fra renseanlegg og fosfat i kunstgjødning inneholde tungmetaller. Organisk gjødning gjør at jorda holder bedre på vann, og plantenæringen tilføres sakte ved mineralisering (oksidering).

Mikroorganismer frigir mineraler fra organiske stoffer og mineraliseringen er avhengig av temperatur, vann, oksygen, mikroorganismer og pH. Kunstgjødning løses raskt opp i jordvannet og gir rask frigivelse av næringsstoffer, men lettere utvasking. Organisk gjødning vil i mange tilfeller ikke frigi nok næring for optimal vekst, men kan i slike tilfeller suppleres med kunstgjødning. Kunstgjødning kan være granulert slik at næringsstoffene blir frigitt sakte, avhengig av temperatur og nedbør. Store mengder gjødning kan virke giftig på plantene. For mikronæringsstoffene er det kort vei fra nytte til giftighet. Store mengder nitrogen gir mye bladverk og sterk vegetativ vekst, men lite fruktsetting. Stort innhold av nitrat i bladgrønnsaker har helseskadelig effekt, noe som kan oppstå ved kraftig gjødning med salpeter samtidig med at lysforholdene er dårlige.

## Applisering av gjødning

Plantene har forskjellig gjødningkrav gjennom vekstperioden. Vanligvis gjødsles det i begynnelsen av vekstsesongen, men splitt-applisering med næringstilførsel flere ganger i vekstperioden kan gi bedre utnyttelse. Husdyrgjødsel og kunstgjødning tilføres

jorda i fast, flytende eller gassform med forskjellige typer gjødselspredere. Bløtgjødsel kan blandes med vann og spres som gylle. Ved korndyrking kan gjødsel spres samtidig med såing. Båndgjødsling vil si å plassere gjødsel langs og inntil radene med planter. Det er viktig for all gjødsel at den nedmoldes raskt for å hindre avrenning. I tørre strøk kan vann og gjødsel tilføres plantene med dryppirrigasjon gjennom tynne plastslanger. Fordelen med dryppirrigasjon sammenlignet med vannspredere er mindre avrenning og gjødsel kan fordeles gjennom veksts sesongen. Bladene holder seg samtidig tørre. Tilførsel av flytende gjødsel setter krav til ikke-korroderende injektorsystemer. Fosfor må tilføres separat ved pH 4 - 5, siden fosfor feller ut mikronæringsstoffer. Fosfor kan også felle ut kalsium og magnesium. I vannkultur (hydroponik) dyrkes plantene uten jord, og næringen tilføres i flytende form avhengig av behov. pH i næringsløsningen kan kontrolleres med å veksle mellom ammonium og nitrat som nitrogenkilde. Ofte brukes et fast medium rundt røttene som steinull, stein eller sand.

Planteveksten påvirkes av jordtype, jordstruktur, vanninnhold, lufttilgang, og pH. **Kationbytterkapasiteten** (CEC -"cation exchange capacity") sier noe om vekstmediets evne til å holde på utbyttable kationer ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  etc.). CEC avhenger av jordtype, og høy CEC angir større mineralreserver. Anionbytterkapasiteten er liten sammenlignet med CEC. Nitrat og klorid vaskes lett ut av jorda og tar med seg basekationer. Mose, bark og sagflis har omtrent samme kationbytterkapasitet.

**Jordanalyse** er en kjemisk bestemmelse av mengden næringsstoffer i jorda og gir et mål på potensiell tilgjengelig næring. Ved plantevevanalyse får man en oversikt over innholdet av mineralnæringsstoffer i plantene, som eventuelt kan gi indikasjon om det er gunstige næringsforhold. Sopp dominerer som nedbrytere i sur jord og bakterier dominerer i mer basisk jord. Sur jord har økt forvitring av K, Mg, Ca og Mn. pH synker ved nedbrytning av organisk stoff, samt ved sur nedbør.  $\text{CO}_2$  fra nedbrytning og respirasjon i jorda virker surgjørende. Opptak av ammonium gir økt surhet i jorda, men opptak av nitrat gjør rotsonen mer basisk. Mikrobiell nedbrytning av organisk stoff gir ammonium og sulfid som kan bli oksidert til henholdsvis nitrat (nitrifikasjon) og sulfat.

$\text{H}^+$  fra sur nedbør i nedbørrike områder og naturlig forsuring vasker ut K, Mg, Ca og Mn fra kolloider i jord med liten bufferkapasitet. Jfr. bleikjordslag i podsol og utfelling i et dypere utfellingssjikt i jordprofilen.

Tørre områder har ikke utvasking, men saltakkumulering og salinisering. Overskudd av mineraler gir redusert vekst i tørre og halvtørre områder. Forvitring frigir K, Mg, Ca og Mn, men disse vaskes ikke ut og forblir i den alkaliske jorda. NaCl og  $\text{NaSO}_4$  er det mest vanlige saltene i saltjord. Høyt saltinnhold pga. salinisering og eksponering for sjøvann gir toksiske effekter på mange planter (glykofytter), mens salttolerante planter (halofytter) tåler høyere saltkonsentrasjoner. Saltjord og saltstress gir seleksjon av salttolerante planter og halofytter. Irrigasjon med 100-1000 g mineraler/ $\text{m}^3$  og høy evaporasjon i tørre områder bidrar til salinisering.

**Rhizosfære** (rotsone) er det nærmeste mikromiljø rundt røttene. Ioner forflyttes til rota med massestrøm og diffusjon, og opptaket er avhengig av konsentrasjon og fluks. Næringsopptaket lager en konsentrasjonsgradient med en

næringsuttømmingssone 0.2 - 2 millimeter nær rota, når opptaket i røttene er større enn erstatningen via diffusjon og massestrøm fra jordløsningen.

## Forskjellige typer gjødsel

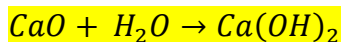
Fullgjødsel® 11-5-17 fra Norsk Hydro inneholder 11% N (4.6%  $\text{NO}_3^-$ +6.5%  $\text{NH}_4^+$ ), 5% P ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) og 17% K ( $\text{K}_2\text{O}$ ), og i tillegg magnesium, svovel og bor. At den er klorfattig vil si at det er brukt andre kaliumsalter enn kaliumklorid (KCl). Det finnes mange forskjellige typer såkalt NPK-, NK-, P- og PK-gjødsel. Kalksalpeter™ inneholder 15.5% nitrogen og 19% kalsium. Superba er en vannløselig gjødsel som har anvendelse innen hagebruk og veksthusnæring.

## Kalking

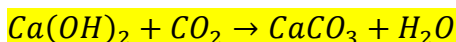
pH bestemmer alkalitet eller surhet i jorda og er et mål på konsentrasjonen av protoner ( $\text{H}^+$ ) og hydroksylioner ( $\text{OH}^-$ ). Ved pH=7 (nøytral) er det like mye  $\text{H}^+$  og  $\text{OH}^-$ ,  $10^{-7}$  M. Planter trives best på svak sur jord fra pH 5.0 - 6.8 avhengig av art. Potet vokser best på sur jord pH 5 - 6. Løk, spinat, kål og brokkoli trives best ved pH 6.0 - 6.8. Når poteter vokser på sur sandjord kan det lett bli for lite kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) og potetene får da et brunt hulrom i midten. Samme symptom kan oppstå ved mangel på bor. Kalium ( $\text{K}^+$ ) øker størrelsen på poteten ved å øke vanninnholdet. Kalking vil si å tilføre kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), men kalking betyr nødvendigvis ikke at pH øker i jorda. Kalk kan tilføres som brent kalk ( $\text{CaO}$ ), kalksteinsmel ( $\text{CaCO}_3$ , kalsitt), hydratkalk ( $\text{Ca(OH)}_2$ ), dolomittkalk ( $\text{CaMg(CO}_3)_2$ ), eller magnesitt ( $\text{MgCO}_3$ ). Brent kalk framstilles ved oppvarming av kalkstein ( $\text{CaCO}_3$ , kalkspat, kalsitt) i en kalkovn ved ca.  $1000^\circ\text{C}$  med følgende reaksjon:



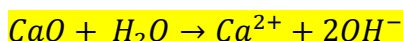
Hydratkalk lages ved lesking av brent kalk med vann, en prosess med sterk varmeutvikling:



Lesket kalk, sand og vann en blanding som ved muring herdes over tid ved opptak av karbondioksid:



Den syrenøytraliserende effekt av brent kalk skyldes:



Tilgjengeligheten av flere grunnstoffer påvirkes av pH. Blir pH i jorda for høy kan plantene få vanskeligheter med å ta opp jern og mangan og få **kalkklorose**.

## Framstilling av kunstgjødsel

### Nitrogen

Ammoniakk framstilles ved Haber-Bosch-metoden fra hydrogen og nitrogen ved høyt trykk og temperatur (200-400 bar, 400 - 600°C). Hydrogen kommer fra elektrolyse av vann, fra delvis oksidasjon av metan eller katalysert fra metan og vanddamp. Nitrogen kommer fra avkjølt destillert luft. Fritz Haber fikk nobelprisen i kjemi i 1918 og Carl Bosch fikk den i 1931 for utvikling av katalysatoren. I 1904 førte Christian Birkeland og Samuel Eyde oksygen og nitrogen gjennom en lysebue og laget niktrogenoksid som kunne omdannes til nitrat. Denne prosessen la grunnlaget for Norsk Hydro. Denne metoden ble etterhvert for kostbar og erstattet av Haber-Bosch. En annen kunstig måte å fikserer nitrogen er en reaksjon med kalsiumkarbid hvor det dannes kalsiumcyanamid. Kalsiumcyanamid kan hydrolyseres til ammoniakk og urea. I Chile finnes naturlige forekomster av natriumnitrat (Chilesalpeter). Ammoniumfosfat lages ved å tilføre ammoniakk til fosforsyre. Salpeter er et gammelt navn på kaliumnitrat ( $\text{KNO}_3$ ) (l. *sal petrae* - klippesalt). Lavoisier kalte den luften, som Scheele tidligere hadde funnet, for azote (gr. *a* - ikke; *zotikos* - for liv). Med koblingen til salpeter fikk den seinere navnet nitrogène (salpeterdanner)

### Fosfor

Fosfor (gr. *phosphoros* - lysbærer) kommer fra en lite krystallisert apatitt kalt fosforitt (råfosfat,  $\text{Ca}_5(\text{OH,F})(\text{PO}_4)_3$ ), som finnes i Nord-Afrika, Canada, Kolahalvøya og Florida). Spesielt i Nord-Afrika er det politiske konflikter knyttet til fosfatforekomstene. Råfosfat er tungtløselig i vann og må løses i svovelsyre eller salpetersyre. Råfosfat løst i svovelsyre gir løselig fosfat i form av  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  og  $\text{CaSO}_4$ , en blanding som kaller superfosfat. Løses råfosfat i fosforsyre dannes trippel superfosfat. Løses råfosfat i salpetersyre dannes kalsiumnitrat som brukes til kalksalpeter. Kalsiumnitrat nøytraliseres med ammoniakk ( $\text{NH}_3$ ). Thomasfosfat, et kalsiumfosfatsilikat, kommer som et biprodukt ved framstilling av jern.

### Magnesium

Magnesium kan isoleres fra havvann fellt ut som magnesiumhydroksid ( $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ) ved tilseting av brent kalk ( $\text{CaO}$ ) eller brent dolomitt ( $\text{CaO-MgO}$ ).

Grunnstoff	Utgangsmateriale for gjødsel
Nitrogen	Ammoniumnitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ); ammoniumsulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ); kalsiumnitrat ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ); kaliumnitrat ( $\text{KNO}_3$ ); diammoniumfosfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ); urea.
Fosfor	Monoammoniumfosfat ( $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ ); diammoniumfosfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ); superfosfat, kaliumfosfat.
Kalium	Kaliumklorid ( $\text{KCl}$ ); kaliumnitrat ( $\text{KNO}_3$ ); kaliumsulfat ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ); kaliumfosfat; $\text{KMgSO}_4$ .
Magnesium	Dolomitt ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ); magnesiumsulfat ( $\text{MgSO}_4$ , kieseritt); magnesiumoksid ( $\text{MgO}$ ); $\text{KMgSO}_4$
Kalsium	Kalkstein ( $\text{CaCO}_3$ ); dolomitt ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ); gips ( $\text{CaSO}_4$ ); kalsiumnitrat ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ); superfosfat; trippelsuperfosfat.
Svovel	Svovel; ammoniumsulfat ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ); gips ( $\text{CaSO}_4$ ); magnesiumsulfat ( $\text{MgSO}_4$ ); $\text{KMgSO}_4$ .
Jern	Ferrosulfat ( $\text{FeSO}_4$ ); ferrisulfat ( $(\text{Fe})_2(\text{SO}_4)_3$ ); Fe-EDTA.
Mangan	Mangansulfat ( $\text{MnSO}_4$ ); manganoksid ( $\text{MnO}$ ); Mn-EDTA.
Kobber	Kobbersulfat ( $\text{CuSO}_4$ ); kobberklorid ( $\text{CuCl}_2$ ); Cu-EDTA.
Bor	Boraks ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ , natriumborat).
Molybden	Ammoniummolybdat; natriummolybdat ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ).
Zink	Zinksulfat ( $\text{ZnSO}_4$ ); zinkklorid ( $\text{ZnCl}_2$ ); zinkoksid ( $\text{ZnO}$ ); Zn-EDTA

EDTA - etylendiamin tetraediksyre virker som et chelat.

## Bladgjødsling

Plantene har mulighet til å ta opp eller avgi uorganiske og organiske stoffer via blad og andre overjordiske deler. Bladgjødsling med mikronæringsstoffer f.eks. Jern, mangan og kobber kan skje i en tynn vannfilm tilsatt en detergent e.g. Tween 80 som

reduserer overflatespenningen. Diffusjon skjer gjennom kutikula eller opptak gjennom spalteåpninger. Spraying med bladgjødning i kjølig og overskyet vær reduserer uttørking og saltbrenning. Hos noen akvatiske neddykkete planter er bladene hovedopptaksstedet for grunnstoffer, i motsetning til landplantenes røtter. Det kutiniserede overflatelaget på landplanter består av et celluloseskjelett innsatt med kutin, voks og pektin. Voks skilles ut fra epidermiscellene og består av langkjedete alkoholer, ketoner og estere av lange fettsyrer. De fleste porene i kutikula har diameter mindre enn 1 nm, og gjennom disse kan det skje opptak av stoffer. Porene har negative ladninger fra polygalakturonsyre, slik at opptaket av kationer går lettere enn for anioner. En annen rute inn i bladverket er via spalteåpningene. Antallet spalteåpninger varierer fra 20 per mm<sup>2</sup> hos sukkulenter til 100-200 per mm<sup>2</sup> hos ettårige, og mer enn 800 hos trær. Det er som regel flest på undersiden av bladene. Gjødning kan tilføres via bladene, men problemer er avrenning fra hydrofobe overflater, avvasking via regn, og inntørking av spray-løsningen. Det er bare en begrenset mengde makrogrunnstoffer som kan tilføres, og bladgjødning er mest brukt for mikronæringsstoffer. Det kan bli bladskader som følge av høye saltkonsentrasjoner, men bladskadene ser ut til å bli mindre hvis sprayløsningen har lav pH. I mange tørre områder er den øverste jorda så tørr at tilgangen på grunnstoffer blir begrenset. Tilførsel av næring via bladene kan i dette tilfellet være mulig. Frukttrær kan sprøytes med tynn borkløyning om høsten for å hindre bormangel. Både svoveldioksid, nitrogenoksid og ammoniakk kan tas opp gjennom spalteåpningene. I et forsøk vi gjør i laboratorieundervisningen, tilføres plantehormonet gibberellin som en dråpe på bladverket til en dvergsort av erter. Plantehormonet tas opp gjennom bladverket og gir økt strekning av planten.

## Aminosyremetabolisme

### Aspartatfamilien

Aminosyren aspartat (asparaginsyre) omdannes til threonin, methionin og lysin i en greinet biosyntesevei. Threonin er utgangsmateriale for å lage isoleucin. Methionin kan omdannes til S-adenosylmethionin. S-adenosylmethionin er en viktig metyldonor i metyleringsreaksjoner og er forkomponent til etylen og polyaminer. Svovelgruppen i cystein overføres til methionin via homoserin-4-fosfat, cystathionin og homocystein. Metylering av homocystein skjer ved hjelp av tetrahydrofolat. Ved spiring av erter dannes det store mengder homoserin.

Reguleringsenzymer i aspartatfamilien er aspartat kinase (AK) som fosforylerer aspartat og gir aspartat-4-fosfat er et viktig allosterisk reguleringsenzym. Det finnes 3 forskjellige isoenzymer, AKI, AKII og AKIII. AKI hemmes av lysin og S-adenosylmethionin. Både AKII og AKIII hemmes av threonin. Hvis man lar embryoer av bygge vokse i nærvær av lysin og threonin som hemmer AK vokser de dårlig siden det blir for lite methionin. Dihydrodipicolinat syntase, som er det første enzymet i greiningspunktet til lysin, blir hemmet av lysin ved tilbakekobling. Homoserin dehydrogenase (HSDH), som reduserer aspartat-4-semialdehyd til homoserin



reguleres av threonin og og danner et stort enzymkompleks med threoninfølsom aspartat kinase. Hele biosynteseveien finnes i plastidene, bortsett fra siste trinnet i syntesen av methionin og S-adenosylmethionin som finnes i cytoplasma.

## Livsnødvendige aminosyrer og fettsyrer

Plantene kan også lage syv aminosyrer (blant annet metionin og lysin) som mennesker og dyr er avhengig av i sin ernæring. Vi kan ikke lage disse aminosyrene selv og de kalles derfor nødvendige eller essensielle. Kornslagene inneholder små mengder av den nødvendige aminosyren lysin. Mennesker og dyr som lever ensidig på kornprodukter kan av denne grunn få mangelsykdommer. **Kwashiorkor** kalles denne sykdommen som er karakterisert av oppblåst mage på en tynn kropp. Dette skyldes at ved mangel på proteiner brytes det ned blodproteiner (serum albumin) som spiller en viktig rolle i osmotisk trykk mellom blod og tarmvæske.

Fett er uløselig i vann og består av tre fettsyrer bundet til glycerol. Fettsyrene fra planteriket er umettet. Det gjør de lettflytende i motsetning til mettet fett. I tillegg til nødvendige aminosyrer lager altså plantene umettede fettsyrer som vi heller ikke klarer å lage og som vi må få tilført via kosten for å kunne lage prostaglandiner. Karotenoidene i plantene brukes av oss til å lage vitamin A som videre omdannes til en form som er nødvendig for at vi skal kunne se. Dette viser plantenes store betydning for vårt liv.

## Shikimatbiosyntesevei og syntese av aromatiske aminosyrer

Shikimatbiosynteseveien finnes i planter, bakterier og sopp, men ikke hos dyr. Den har fått navn etter det japanske navnet *shikimino-ki* for planten kinesisk stjerneanis (*Illicium religiosum*, Illiciaceae). Biosynteseveien fører fram til de 3 aromatiske aminosyrene fenylalanin, tyrosin og tryptofan.

Metabolismeveien starter med erythrose-4-fosfat som kommer fra pentosefosfatveien, og fosfoenolpyruvat fra glykolysen. Det første produktet er 3-deoksy-D-arabinoheptulosonsyre-7-fosfat (DAHP) katalysert av **3-deoksy-D-arabinoheptulosonat-7-fosfat syntase**. Dette første enzymet blir ikke hemmet av noen av de aromatiske aminosyrene. Deretter følger en defosforylering, tilføring av vann og reduksjon med NADPH som gir shikimat. Shikimat fosforyleres med ATP og reagerer med fosfoenolpyruvat og danner 3-enolpyruvylshikimat-5-fosfat (EPSP). Enzymet **5-enolpyruvul-shikimat-3-fosfat syntase** (EPSPS) katalyserer overføring av enolpyruvyl delen av fosfoenolpyruvat til shikimat-3-fosfat hvor man får dannet chorismat. Dette enzymet hemmes av ugrasmiddelet **glyfosat**.

Chorismat er greiningspunkt og siste felles forbindelse mellom tryptofan og fenylalanin/tyrosin. Chorismat omdannes til prefenat, katalysert av **chorismat mutase**, som videre ved transaminering gir arogenat. Arogenat gir tyrosin etter dekarboksylering katalysert av **arogenat dehydrogenase**. Arogenat kan også ved dekarboksylering og fjerning av vann gi fenylalanin, katalysert av **arogenat**

**dehydratase.** Det finnes to isoenzymer av chorismat mutase. En type hemmes av tyrosin og fenylalanin, og aktiveres av tryptofan. Det andre blir ikke regulert ved tilbakekobling. Arogenat dehydratase hemmes av fenylalanin og aktiveres av tyrosin. Arogenat dehydrogenase hemmes av tyrosin. I biosynteseveien til tryptofan med en indolring omdannes chorismat til anthranilat katalysert av **anthranilat syntase**, med glutamin som aminodonor. Deretter følger 5 enzymatiske trinn hvor indolringen lages. Tryptofan benyttes også til å lage auxin, alkaloider og fytoaleksiner. Alle trinnene i syntesen av aromatiske aminosyrer skjer i plastidene, men isoenzymer i synteseveien finnes også i cytosol. Biosynteseveien kan aktiveres ved stresstilstander.

## Biosyntese av greinete aminosyrer (isoleucin, valin og leucin)

Første trinnet fra threonin til isoleucin katalyseres av anabolsk threonin deaminase. **Threonin deaminase** hemmes av isoleucin ved tilbakekobling. Det finnes threonin deaminase som deltar i katabolisme av threonin og serin, men dette enzymet hemmes ikke av isoleucin. Neste trinn er overføring av 2 karbonatomer fra hydroksyetylpyrofosfat katalysert av **acetohydroksysyre syntase** (acetolaktat syntase). Dette enzymet hemmes av herbicider (ugrasedrepere) som sulfonylurea, triazolpyrimidiner og imidazolinoner, som blokkerer for syntesen av valin, leucin og isoleucin. Syntesen av valin skjer parallelt med isoleucin, og disse to biosynteseveiene har fire felles enzymer. Første trinnet i syntesen av leucin katalyseres av isopropylmalat syntase, som hemmes av leucin ved tilbakekoblingen. I dette trinnet overføres acetyl via acetyl-CoA til 2-ketoisovalerat.

## Ornithin-syklus, arginin, glutaminsyre (glutamat) og prolin

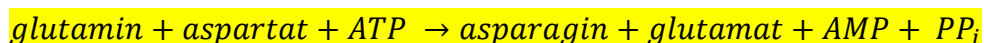
Glutaminsyre spiller en sentral rolle i assimilasjonen av nitrogen i form av ammonium inn i organiske forbindelser. Glutaminsyre ble første gang isolert av Ritthausen i 1866 ved hydrolyse av gluten fra hvete og derav navnet. Glutamin er amidet av glutaminsyre. Glutaminsyre er råmaterialet for andre aminosyrer ved å bidra med karbonskjeletter og nitrogen. Arginin, glutamin og asparagin er viktige for lagring og transport av nitrogen i planter. Arginin ble første gang oppdaget av Schulze og Steiger i 1886 og isolert fra kimplanter av lupiner. Nitrogenet frigis fra arginin i form av urea katalysert av enzymet arginase, og produktet er ornithin. Citrullin er en aminosyre som man fant store mengder av i saften av vannmelon (*Citrullus vulgaris*). Det skulle vise seg at citrullin var et mellomprodukt i biosyntesen av arginin i ornithin-syklus (Krebs-Henseleit syklus) oppdaget i 1932. Ornithin reagerer med karbamoylfosfat og gir citrullin. Citrullin omdannes deretter via argininosuccinat til arginin. Ornithin lages forøvrig fra glutamat via metabolismerekken glutamat, acetyl-glutamat, glutamat  $\gamma$ -semialdehyd, acetyl-ornithin og ornithin. I tillegg er arginin utgangsmateriale for å lage signalstoffet og radikalet nitrogenoksid (NO) katalysert av enzymet NO syntase. Arginin inngår også i opiner (octopin) laget av bakterien *Agrobacterium tumefaciens*.

## Stressaminosyren prolin

Prolin lages fra aminosyren glutamat som omdannes først til glutamat semialdehyd som videre gir  $\Delta$ -pyrrolin-5-karboksylat katalysert av  **$\Delta$ -pyrrolin-5-karboksylat syntetase**.  $\Delta$ -pyrrolin-5-karboksylat reduseres til prolin av  $\Delta$ -pyrrolin-5-karboksylat reduktase. Prolin akkumuleres under forskjellige typer stress f.eks. saltstress og tørkestress. Man tenker seg at prolin virker som et osmotisk stoff i denne sammenheng. Abscisinsyre deltar i aktiveringen av  $\Delta$ -pyrrolin-5-karboksylat syntase. Celleveggene inneholder protein med mye hydroksyprolin. Hvis det er stort behov for prolin til celleveggoppbygging kan argininkatabolisme via ornithin bidra med prolin.

## Asparagin

Vauquelin og Robiquet fant i 1806 den første aminosyren som var asparagin og denne ble isolert fra asparges. Amidnitrogenet i glutamin kan overføres til aspartat katalysert av **asparagin syntetase**:



Enzymet finnes i cytosol i røtter og blad og i nitrogenfikserende rotnoduler. I mørke, hvor det blir lite karbonskjeletter i forhold til nitrogen, lages asparagin på bekostning av glutamin. Lys, som aktiverer glutamin syntetase, hemmer både aktivitet og genuttrykk av asparagin syntetase.

## Biosyntese av pyrimidiner og puriner

Orotat er et pyrimidin som lages fra  $\text{CO}_2$ , aspartat, amid N i glutamin og bindes til 5-fosforibosyl-1-pyrofosfat som omdannes videre til UTP og CTP. Enzymene i biosynteseveien finnes i plastider. Puriner lages fra  $\text{CO}_2$ , glycin, methenyl-tetrahydrofolinsyre (THF), formyl-tetrahydrofolinsyre, aspartat og glutamin. Base reagerer med fosforibosyl-1-pyrofosfat katalysert av en fosforibosyltransferase og danner ribonukleosid og pyrofosfat.

## Sekundærmetabolisme

Plantene inneholder en rekke kjemiske stoffer som hører inn under samlenavnet sekundærmetabolitter, laget i sekundærmetabolismen, men som har sin opprinnelse fra primærmetabolitter i primærmetabolismen (glykolyse, pentosefosfatvei, sitronsyresyklus, glyoksylatsyklus,  $\alpha$ - og  $\beta$ -oksidasjon av fettsyrer). De finnes både hos prokaryoter og eukaryoter. Primærmetabolitter finnes i alle planter og deltar i generelle metabolske prosesser. Det er tre hovedgrupper sekundærmetabolitter:

terpener, fenoler og nitrogenforbindelser. Sekundærmetabolittene har ved første øyekast tilsynelatende ingen funksjon i vekst og utvikling, og de forskjellige stoffene har begrenset utbredelse i planteriket. De naturlig forekommende sekundærmetabolittene omfatter bl.a. ca. 12.000 forskjellige alkaloider dannet fra aminosyrer, 25.000 terpenoider, 8.000 fenoler, 400 ikke-proteinamino-syrer, 100 aminer, 10 pretase inhibitorer (lektiner), samt 100 cyanogene glykosider og 100 glukosinolater, begge dannet fra aminosyrer. Ofte kan disse stoffene være kompleksbundet til sukker som glykosider. Mange av stoffene har spesiell økologisk interesse og gir interaksjoner mellom planter og omgivende organismer. Mange av sekundærmetabolittene brukes som medisiner, parfyme, smaksstoffer, fargestoffer, harpiks, voks, gummi og planteoljer.

Det er mange hypoteser om hvorfor plantene har så mange forskjellige sekundærmetabolitter: overskuddsmetabolisme, lagring og avgiftning av stoffer, stoffer som gir planten en adaptiv fordel. Stoffene inngår i positiv og negativ interaksjon mellom planter, dyr, sopp, bakterier samt andre planter (kjemisk økologi). Det kjemiske forsvar er et resultat av en evolusjonsprosess. Landbruksvekster er selektert på lavt innhold av sekundærmetabolitter og blir lett utsatt for herbivore og patogener. De enkleste typene av sekundærmetabolitter er mest vanlige, men de mer komplekse kjemiske strukturene er begrenset til noen få familier og arter. Viktige enzymer i omsetningen og dannelse av sekundærmetabolitter er cytokrom P450 monooksygenase, metyltransferaser hvor S-adenosylmetionin er en viktig metyldonor, demetylaser, monooksygenaser, dioksygenaser, isomeraser, syklaser, dekarboksylaser, oksidaser, syntaser og reduktaser. **Allomoner** er kjemiske stoffer som skiller ut av en organisme og som påvirker en annen organisme f.eks. luktstoffer fra planter som tiltrekker insekter.

Mange av sekundærmetabolittene er viktige bestanddeler i krydder og urteplanter: Sennepsoljeglykosider hos arter i korsblomstfamilien. Piperin fra pepper (*Piper nigrum*), Capsaicin fra chilipepper (*Capsicum frutescens*) og som binder seg til varmereseptorer i kroppen slik at man starter å svette. Løk inneholder en rekke svovelamino-syrer (alliin) og andre svovelforbindelser. I leppeblomstfamilien (Lamiaceae) er det mange planter med eteriske oljer som brukes som krydderplanter: rosmarin (cineol, borneol, kamfer,  $\alpha$ -pinen), oregano (thymol, carvacrol), timian (thymol, cymen, carvacrol), basilikum (estragol, cineol, fenchol, linalool, metyleugenol). Mentol fra peppermynte (*Mentha piperata*) virker avkjølende fordi det binder seg til kuldereseptorer i kroppen. Safrol fra sassafras (*Sassafras albidum*) og fra muskatnøtt (*Myristica fragrans*) hemmer cytokrom P<sub>450</sub> monooksygenase. Muskatnøtt inneholder for øvrig myristicin. Andre inneholdsstoffer er: nellik (chavicol, eugenol), kanel (cinnamaldhyd), ingefær (gingerol), grønn te (epicatechiner), kaffe (kaffein, klorogensyre).

## Flavonoider

Det finnes mer enn 5000 forskjellige flavonoider som omfatter anthocyaniner, proanthocyanidiner (kondenserte garvestoffer), isoflavonoider, leukoanthocyanidiner, koumariner, furanokoumariner og stilbener. Anthocyaniner virker som skiltapparat og gir farge på blomster, absorberer UV-lys og gir beskyttelse mot oksidasjoner.

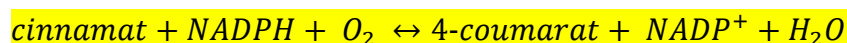
Avhengig av oksidasjonstrinn finnes flavonoler, flavoner, flavononer, chalkoner og auroner. Isoflavonoider virker som fytoaleksiner, har struktur som ligner steroider og kan virke som fytoøstrogen.

## Flavonoider fra shikimatveien - fenypropanoider, lignaner og lignin

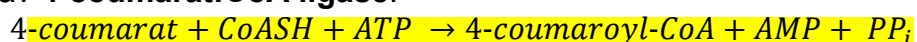
Flavonoider er en heterogen gruppe fenolforbindelser bestående av 15 karbonatomer koblet sammen som C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. De er satt sammen av to ringer A og B, hvor B-ringen er C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> som kommer fra shikimatveien. *para*-coumaryl-CoA reagerer med 3 molekyler malonyl-CoA katalysert av chalcon syntase. Chalcon syntase er et viktig reguleringsenzym. Flavonoidene klassifiseres etter oksidasjonstrinnet på C<sub>3</sub> broen mellom de to C<sub>6</sub>-ringene. Lignaner og lignin er C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-forbindelser. Noen flavonoider absorberer UV-lys og er lokalisert i vakuolen i epidermis. Flavoner og flavnoler absorberer ved kortere bølgelengder og er ikke synlige, og kan virke som nektarguide i form av striper eller flekker. Fenoler kan bli oksidert til brunfargete produkter som binder seg til proteiner og hemmer enzymaktiviteter. Flavonoider kan fjerne reaktive oksygenforbindelser, hemme metallenzymmer, kinaser og fosfataser.

## Fra fenylalanin til fenoler og flavonoider

Fenylalanin danner utgangspunkt for fenoler. Første trinn katalyseres av **fenylalanin ammonium lyase** (FAL) som fjerner ammonium og danner *trans*-cinnamat. Aktiviteten til FAL øker ved mangel på nitrogen eller fosfor, men også ved generell dårlig næringstilgang. Aktiviteten til FAL øker også i lys og ved lav temperatur, og kan også påvirkes av soppinfeksjon. Reguleringen av FAL skjer på transkripsjonsnivå. Rødfarede anthocyaniner som kommer fra fenylalanin dannes på solsiden av et eple. Høstblader kan danne mye rødfarge (anthocyaniner) hvis høsten er solrik og kald. Dette er eksempler på lysregulering av FAL. Cinnamat (kaneltsyre) omdannes til *para*-coumarat, en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-forbindelse, ved tilførsel av en hydroksylgruppe i 4-stilling katalysert av **cinnamat 4-hydroksylase**, - en cytokrom P<sub>450</sub> monooksygenase.



*para*(4)-coumarat brukes til å lage caffeinsyre, coumariner og er råmateriale for syntese av lignin. *para*-coumarat kan reagere med CoA og danne 4-coumaroyl-CoA katalysert av **4-coumarat:CoA ligase**:



**Chalcon syntase** kobler sammen tre molekyler malonyl-CoA og *para*-coumaryl-CoA og danner chalcon. Chalcon kan omdannes til **flavoner**, **isoflavoner** (isoflavonoider) og **dihydroflavonoler**. Dihydroflavonoler gir igjen utgangspunkt for **anthocyaniner** og

**kondenserte garvestoffer** (tanniner).

## Stilbener

Stilbener lages fra p-coumarat ved å tilføre tre molekyler malonyl-CoA og ringdannelse ved aldolkondensasjon. Det er kjent mer enn 200 forskjellige stilbener. Mange av dem er vanlige i kjerneveden fra furu (*Pinus*) og eucalyptus (*Eucalyptus*), samt fra arter i morbærfamilien (Moraceae). Noen av dem virker som fytoaleksiner. Ved fra furu (*Pinus sylvestris*) inneholder **stilbener** bl.a. pinosylvin. Combretastin er et stilben i en afrikansk busk *Combretum caffrum*. Andre stilbener er resveratrol fra blader og frukt i vin (*Vitis vinifera*) som som finnes igjen i rødvin, samt combretastatin. Moser inneholder lunarsyre som har samme funksjon som abscisinsyre.

Svart inbenholdt skyldes lignan, stilben, flavonoider og terpenere.

## Dihydropyrone

Lages fra p-coumarat som reagerer med ett molekyl malonyl-CoA med påfølgende ringdannelse. Kawain fra *Piper methysticum* inngår i drikken kava.

## Koumariner

Koumariner er delta-laktone eller indre estere, og det er kjent flere enn 300 forskjellige koumariner og furanokoumariner. De vanligste er umbelliferon, koumarin, esculetin og scopoletin, og de forekommer ofte som  $\beta$ -glykosider. Hvit legesteinkløver (*Melilotus albus*) og gul legesteinkløver (*Melilotus officinalis*) inneholder melilotosid som av  $\beta$ -glukosidase omdannes til coumarin. Soppvekst i kløver som inngår i høy omdanner coumarin til dicoumarol. Dicoumarol virker antikoagulerende, ligner vitamin K og hemmer syntesen av vitamin K hos dyr. Samme forgiftningen kan man få fra gulaks (*Anthoxanthum odoratum*). Dikoumarol virker på samme måte som rottegiften warfarin.

## Psoralener og furanokoumariner

8-metoksy-psoralen i *Heracleum montegazzianum*. Psoralen er et lineært furanocoumarin, mens angelicin er et vinkelformet furanocoumarin. Seselin er et pyranocoumarin og 4-hydroksycoumarin er et pyron-coumarin. Bergapten. Mange psoralener og furanokoumariner virker fotosensibiliserende og kan gi opphav til fotodynamiske effekter. Furanokoumariner kan også binde seg til DNA. Fototoksiske furanokoumariner kan binde seg interkalært i DNA og kan gi fotodynamiske effekter og giftig singlett oksygen.



## Lignin

Lignin (l. *lignum* - ved) er en polymer i sekundærveggen hos planter som gir mekanisk støtte i hudvev og i vanntransportsystemet i planter. Lignin gir også beskyttelse mot sykdomsfremkallende sopp, bakterier og virus. Lignin virker som "betong" i celleveggen hvor cellulose og hemicellulose danner "armeringsjernet". Lignin er et stort og meget komplekst makromolekyl bygget opp av 3 forskjellige fenylpropanoider ( $C_6-C_3$ ): coniferylalkohol, sinapylalkohol og 4-coumarylalkohol. Alle disse er vanlig i lignin fra angiospermer. Lignin fra gymnospermer inneholder mest coniferylalkohol og mindre mengder 4-coumarylalkohol. Hydrogenperoksid og peroksidaser deltar i en fri radikal polymerisering (krysskobling og lenking) av fenylpropanoider. Celleveggstrukturen er ferdigdannet før lignifisering. De fleste organismer, untatt noen hvitråtesopp, har vanskeligheter med å nedbryte lignin. Lignin som isoleres fra planter er brunfarget og uløselig i vann. Lignin kan brukes til produksjon av syntetisk vanilje (vanillin).

## Lignaner

Lignaner er fenylpropanoiddimere som er bundet sammen i de alifatiske  $C_3$ -sidekjedene ( $C_6C_3$  i 8-8'-binding) f.eks. pinoresinol fra harpiks hos gran og furu. Det er kjent mer enn 450 forskjellige lignaner. Lignaner er fargeløse og finnes i tillegg i kjerneved og blader. Noen av dem virker som antioksidanter. Andre eksempler på lignaner er sesamin fra sesam (*Sesamum indicum*), podophyllotoksin (*Podophyllum peltatum*) som binder seg til tubulin og stopper mitose, og cubebin i frukten fra *Piper cubeba*. Olivil finnes i harpiksen som skilles ut av oliventrær (*Olea europaea*) og guaiaretinretinsyre i harpiks fra *Guajacum officinale*. Det finnes forskjellige hovedtyper lignaner. **Neolignaner** har 8-1'-binding. Secoisolariciresinol kan i tarmen omdannes til enterodiol som er et fytoøstrogen. Matairesinol omdannes til enterolakton. Plicatinsyre finnes i kjerneveden hos kjempethuja (*Thuja plicata*).

## Røde og blå farger på planter

**Flavonoidene** er en gruppe  $C_6-C_3-C_6$ -forbindelser hvor to benzenringer er forbundet med en 3-karbonkjede. De forskjellige typene flavonoider med denne konfigurasjonen varierer med oksidasjonstrinnet av  $C_3$ -kjeden. **Flavoner, flavonoler**, og **anthocyanidiner** har samme oksidasjonsnivå.

**Anthocyaniner** (gr. *anthos*-blomst, *kyanos*-blå) er en gruppe flavonoider, og som kan gi rød og blå farger på blomster, bær, stengler og blad. Anthocyaninene er vannløselige glykosider. De kan ha bundet ett eller to sukker, hvorav de vanligste er glukose, galaktose, rhamnose, arabinose, rutinose, eller gentibiose. Molekylet uten sukker (aglykonet) kalles **anthocyanidin**. Sukker er vanligvis festet i 3'-posisjon, men også i 5', men sjelden i 7'-posisjon. Kronblad kan også ha mer komplekse anthocyaniner hvor sukkeret er acylert med cinnamatsyrer som p-coumarinsyre, kaffeinsyre og ferulinsyre. Sukker kan fjernes ved sur hydrolyse hvis man vil studere



anthocyanidinene.

Til forskjell fra karotenoidene som ikke er vannløselige og er forvart i kloroplaster og kromoplaster, er anthocyaninene vannløselige og lagret i vakuolen i plantecellen. Fargen på anthocyaninene er avhengig av surhetsgraden i vakuolen. De er blå i basisk løsning og røde i sur løsning. Rød brus og vin er begge sure og vil ha rødfargede anthocyaniner. Anthocyaninene er ofte bundet til metaller. Salter av jern og aluminium kan gi økende blåfarge. Det blir ofte en økt syntese av anthocyaniner på lyssiden av planten. Man antar at dette er koblet til økt sukkersyntese på solsiden.

Anthocyanidinene syntetiseres fra aminosyren fenylalanin og biosyntesen er **fotoregulert**. Anthocyaniner kan også gi en form for beskyttelse mot intens solstråling. Flavonoider kan ta hånd om fri radikaler. De kan også lages ved lave temperaturer og virusangrep. Anthocyaninene gir røde høstfarger på bladene og dannes i eple og pæreskall på den delen som vender mot lyset. Jo mer solrik høsten er desto mer rødfarger blir det. Anthocyaninene lages av plantene ved næringsmangel, spesielt ved mangel på nitrogen eller fosfor, og ellers i prosesser hvor planten er utsatt for stress eller får et overskudd av sukker fra fotosyntesen. Unge blad om våren kan også være rødfarget. De røde fargestoffene slipper igjennom blågrønt og rødt lys slik at fotosyntesen går uhindret hvis de er tilstede i store mengder som hos blodbøk, blodlønn og praktspragle. Anthocyaninene fanger også opp ultrafiolett lys. Avhengig av art vil ultrafiolett, blått eller rødt lys stimulere planter til å lage anthocyaniner. Det er de delene av planten som får mest lys, d.v.s. har høyest fotosyntese og lager mest sukker, hvor anthocyaninene lages. Sannsynligvis klarer ikke planten ta hånd om alt karbonet og noe av det som lages blir kanalisert til anthocyaninproduksjon.

Mange av anthocyanidinene har fått navn etter planten de først ble oppdaget i. Fargen varierer med tiden og er avhengig av pH. De er ofte rød i sur løsning og fiolett/blå i basisk løsning. Fargen kan forsvinne helt p.g.a. faseoverganger. Carabinol pseudobase er fargeløs.

Økende antall OH-grupper gir også økende blåfarge. Økende metyleringsgrad gir mer rød farge.

Konsentrasjonen av anthocyaniner påvirker også fargen. F.eks. får solbær farge av fire anthocyaniner som i konsentrert løsning gir nesten svart farge. Mer uttynnet blir fargen rød.

Anthocyaninene har stor betydning innen kjemotaksonomi, bestøvningsøkologi og kan brukes som fargestoff innen næringsmiddelindustri. En ulempe for industrien er at fargen bare er noenlunde stabil i sur løsning.

Eksempler på noen anthocyanidiner er:

Rips, rose, eple, rabarbra, rødkål, tyttebær: **cyanidin** (rød)

Solbær: **delphinidin** (blåfiolett), **cyanidin** (rød)

Bringebær: **cyanidin** (rød), **pelargonidin** (oransjerød)

Blåbær: **delphinidin** (blåfiolett), **cyanidin** (rød), **petunidin** (purpurblå), **peonidin** (dyprød), **malvidin** (purpurfiolett).

Jo flere hydroksylgrupper på B-ringene desto blåere farge og økende metyleringsgrad av B-ringene gir rødere farge.

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Antall O i B-ringene
Pelargonidin	-H	-H	1
Cyanidin	-OH	-H	2
Delphinidin	-OH	-OH	3
Peonidin	-OCH <sub>3</sub>	-H	2
Petunidin	-OCH <sub>3</sub>	-OH	3
Malvidin	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	3

## Betalainer

Det rødfiolette fargestoffet i rødbete (*Beta vulgaris*) og som gir fargen på blomsten *Bougainvillea* er eksempler på vannløselige indolderivater kalt **betacyaniner** (betalainer). De finnes bare innen planteordenen Caryophyllales (f.eks. meldefamilien, kermesbærfamilien, amarantfamilien, middagsblomstfamilien). Betacyaniner og de kjemisk nær beslektede gule betaxanthiner skiller seg fra anthocyaninene ved at de inneholder nitrogen og at de ikke har maken fargeskifte ved forandring i pH som anthocyaninene. Den kjemiske hovedstrukturen i betacyaninene kalles **betanidin** og er et aglykon. I planten er betanidin bundet til sukker og danner et glykosid.

## Garvestoffer (tanniner)

Eik, og umoden frukt og frø kan inneholde mye garvestoffer. Garvestoffer bindes kovalent til protein, og gir den snerpete smaken når spyttproteiner denatureres hvis man f.eks. tygger på en druestein. Egenskapen med binding til protein brukes i garving av skinn. Garvestoffer beskytter mot nedbrytning. Hare og ganger som spiser bark har spytt med høyt innhold av aminosyren prolin som binder seg til garvestoffer, og unngår derved de giftige effektene av garvestoffer. Kaffe og te inneholder garvestoffer. Tannin fra rødvin påvirker endothelin-1 som er et signalmolekyl i sammentrekning av blodårer.

**Hydrolyserbare tanniner** er kopolymere av karbohydrater, gallisyre og ellaisyre fra shikimat. Hydrolyserbare garvestoffer finnes i enfrøbladete planter. **Kondenserte tanniner** (proanthocyanidiner) finnes i alle busker og trær, og lages fra fenyulpropanoid-acetat.

## Terpenoider

Terpener ble først isolert fra terpentint. Terpener er bygget opp av monomeren og femkarbonforbindelsen isopren (C<sub>5</sub>-hemiterpen) og kalles isoprenoider, klassifisert etter antall isoprenenheter. Isopren er flyktig og skilles ut fra planter, og er en viktig kilde for dannelse av ozon i troposfæren.

### Monoterpener (C<sub>10</sub>), sesquiterpener (C<sub>15</sub>), diterpener (C<sub>20</sub>) og polyterpener ([C<sub>5</sub>]<sub>n</sub>)

Den tyske kjemikeren Otto Wallach (nobelprisen i kjemi i 1930) gjorde systematiske studier av terpenoider og kom fram til at de måtte være laget ved sammenkobling hode til hale med enheter av isopren (isopren regelen). Seinere utviklet Leopold Ruzicka (nobelprisen i kjemi i 1939) et generelt system for ringdannelse og rearrangering av karbonskjeletter. Ruzicka hadde opprinnelig arbeidet med stoffer som ga moskuslukt brukt i parfyme (civeton, muscon), men utvidet arbeidet til andre ringdannelser, elektrophile reaksjoner og redoksreaksjoner. Eteriske oljer fra planter inneholder en blanding av monoterpener og sesquiterpener. Alle terpenener i planter settes sammen av 5-karbonenheter fra isopentenylpyrofosfat (IPP) og dimetylallylpyrofosfat (DMAPP). 5-karbonenheterne blir ofte kalt **isopren**. IPP finnes i kjerteltrikomer, sekretoriske celler og i kjertelepidermis på kronblad. Mange av terpenene virker som antibiostoffer i harpiks. I tillegg har de funksjoner som plantehormoner (gibberelliner, abscisinsyre, brassinosteroider), pigmenter (karotenoider), membrankomponenter (steroler). Planter kan skille ut isopren som kan gi en blågrå dis.

Det er to biosynteseveier fram til femkarbonforbindelsen isopentenyl difosfat (IPP), enten via acetyl-CoA eller intermediater i glykolyesen.

1) **Acetat- Mevalonsyrebiosynteseveien** finnes i cytosol og endoplastmatisk retikulum. Glukose omdannes via triosefosfat til acetyl-CoA som er utgangsmateriale. I denne biosynteseveien lages mevalonsyre (mevalonat) fra 3 molekyler med acetyl-CoA, og deretter blir mevalonsyre pyrofosforylert, dekarboksylert og dehydrert og gir isopentenyl-difosfat >(IPP). Først lages acetoacetyl-CoA fra 2 molekyler acetyl-CoA katalysert av acetylCoA acetyltransferase. Acetoacetyl-CoA reagerer med ytterligere ett molekyl acetyl-CoA og danner β-hydroksey-β-metyl-glutaryl CoA (HMG-CoA) katalysert av HMG-CoA syntase. HMG-CoA reduseres deretter til mevalonsyre med NADPH som elektrondonor katalysert av HMG-CoA reduktase. Det er dette enzymet som hemmes av statiner som brukes som kolesterolsenkende medisin. Deretter følger to fosforyleringer med ATP (mevalonsyre kinase og fosfomevalonat kinase) som gir mevalonsyre-5-pyrofosfat (MVA-PP). MVA-PP dekarboksyleres ved hjelp av ATP (disfosfomevalonat dekarboksylase) og danner isopentenyl-pyrofosfat (IPP). IPP isomerase danner ved isomerisering dimetylallyl-pyrofosfat (DMAPP). IPP og DMAPP er de to femkarbonforbindelsene som danner grunnlaget for syntese av isoprenforbindelser (isoprenoider).

## 2) Deoksyxylulosefosfatbiosynteseveien eller metylerythritol (MEP)

biosynteseveien som finnes i plastider.

Glyceraldehyd-3-fosfat som kommer fra glukose danner sammen med pyruvat forbindelsen 1-deoksyxylulose-5-fosfat (DOXP) katalysert av DOXP syntase. DOXP omdannes via 2-metyl-D-erythritol-4-fosfat katalysert av DOXP reduktisomerase til isopentenylidifosfat. IPP og isomere fusjoneres deretter.

Enzymet **isopentenylidifosfat isomerase** katalyserer isomerisering mellom isopentenylpyrofosfat (IPP) og dimetylallyldifosfat (DMAPP). **Limonen syntase** kobler sammen IPP og DMAPP og lager geranylidifosfat. Geranylidifosfat brukes til å lage (-)-limonen katalysert av plastideenzyymet **4s-limonen syntase**. (-)-limonen kan nå enten brukes til å lage (-)-carvon eller (-)-mentol. Limonen-6-hydroksylase lager *trans*-carveol fra limonen som brukes til å lage carvon. Limonen inngår i sitronolje. **4s-limonen-3-hydroksylase** lager *trans*-isopiperitenol som brukes til å lage mentol bl.a. i trikomer hos peppermynte.

IPP og DMAPP danner geranylpyrofosfat bestående av 10 karbonatomer, og som er utgangspunkt for syntese av monoterpener.

Geranylpyrofosfat ragerer med IPP og danner C<sub>15</sub>-forbindelsen farnesylpyrofosfat som brukes til å lage sesquiterpener. C<sub>15</sub> og polyterpener lages i cytosol i endoplasmatisk retikulum via acetat-mevalonsyreveien.

Farnesylpyrofosfat ireaksjon med IPP lager geranylgeranylpyrofosfat med 20 karbonatomer og utgangspunkt for diterpener.

Farnesylpyrofosfat sammen med geranylgeranylidifosfat gir molekyler med 30 karbonatomer som squalen, triterpener og steroider. To molekyler geranylgeranylpyrofosfat kan brukes til å lage phytoen og tetraterpener med 40 karbonatomer.

Terpenoidene C<sub>15</sub>, C<sub>30</sub> og polyterpener lages i cytosol og ER. Terpenoidene C<sub>10</sub>, C<sub>20</sub> og C<sub>40</sub> inkludert prenylerte kinoner lages i plastider. Prenyltransferase som lager kolesterol har sekvenslikhet hos bakterier, planter og dyr.

## Monoterpener

Monoterpener er C<sub>10</sub>-forbindelser som gir lukt og aroma fra krydder, urter og blomster. Monoterpener lages i kjerteltrikomer og i sekretoriske hulrom i blad, samt i kjertelepidermis på kornblad.  $\alpha$ - og  $\beta$ -pinen er vanlige monoterpener i gran og furu og finnes i harpikskanaler. Lanalool tiltrekker insekter. 1,8-cineol og kamfer virker som antieitestoff. Mentol lages i sekretoriske celler i kjertelhår i peppermynte og bindes til en kuldereseptor i mennesker. Limonen finnes i sitron. **Pyrethriner** fra *Chrysanthemum* og *Tanacetum* er monoterpenestere som dreper insekter og virker som insekticid. Pyrethriner er irregulære monoterpener uten hode-til hale binding av monoterpenestere.

Nepetalakton fra kattemynte (*Nepeta cataria*) er et monoterpenlakton og insektferomon, og som navnet sier kan tiltrekke katter.

## Sesquiterpener

C15-sequiterpener inngår i essensielle oljer sammen med monoterpener, fytoaleksiner og antibiostoffer. Den kinesiske medisinsplante Qinghaosu (*Artemisia annua*) inneholder artemisinin som er et antimalariamiddel. Sesquiterpenlaktoner virker som bitterstoffer. Gossypol fra bomull og capsidiol, et fytoaleksin, er sesquiterpener. Picrotoksiner kan finnes igjen i honning. Costunolid finnes i kjertelhår i korgplantefamilien (Asteraceae) bl.a. i laurbærblad. Dendrobin i *Dendrobium*.

## Diterpener

C20-diterpener omfatter fytol, gibberellin, harpiks fra bartrær, og fytoaleksiner. Forbolestere er diterpener som inneholder oksygen og finnes hos arter i vortemelkfamilien (Euphorbiaceae). Forbolestere virker som kokarsinogener. Grayanotoksin fra lyngplantefamilien (Ericaceae). Enmein fra leppeblomstfamilien (Lamiaceae). Ginkgolider finnes i *Ginkgo biloba*. Forskolin hemmer enzymet adenylat sykklase og finnes i *Coleus forskohlii*. Fusicoccin er et diterpenoid fra visnesoppen *Fusicoccum amygdali* som angriper fersken- og mandeltre, og som aktiverer H<sup>+</sup>-ATPase. Fusicoccin gjør at lukkecellene har fullt turgor slik at bladene tørker ut. Trachyloban er et diterpen fra solsikke (*Helianthus*). Lerkespore (*Delphinium*) inneholder giftige polysykliske diterpener som aconitin. Mange diterpenalkaloider er giftige. Tyrihjelms (*Aconitum*) i soleiefamilien inneholder aconitin. *Erythrophleum* inneholder giftige diterpenalkaloider.

## Triterpener

Triterpener lages fra mevalonsyre via triterpenet squalen fra to molekyler farnesyl pyrofosfat, og det er kjent mer enn 4000 forskjellige triterpener. Squalen omdannes til 2,3-squalen epoksid og ved ringdannelse lages triterpenene. Triterpener er forkomponent for steroider. Noen triterpener forekommer fritt, men noen er bundet til sukker som glykosider og virker som såpestoff (saponiner). Det skummer rundt munnen på kua når den beiter. **Cucurbitaciner** er bitre og giftige triterpener som er vanlige i agurkfamilien (Cucurbitaceae).

*Eupatium* i korgplantefamilien (Asteraceae) inneholder eupatorin som er et giftig triterpensaponin som gir forgiftninger av husdyr i N-Amerika. Amyrin, friedelin, taraxeran og oleanolsyre er eksempler på pentasykliske triterpener.

Stigmasterol, campesterol og  $\beta$ -sitosterol er vanlige steroler i planter (fytosteroler). Planter kan lage fytoecdysteroider som er homologe med hormonet ecdyson som deltar i metamorfosen og stimulerer hudskifte hos insekter. Fytoecdyson er isolert fra sisselrot (*Polypodium vulgare*). Juvabion i planter er en analog til juvenil hormon i insekter. Dyr kan ta opp steroler fra planter og bruke dem i sin egen syntese av steroidhormoner.

**Saponiner** er glykosider av steroider eller triterpenoide og finnes i omtrent alle plantefamilier, og i større konsentrasjoner er de giftige. Glycyrrhizin som smaker lakris hos lakrisplanten (*Glycyrrhiza glabra*) er et saponin. Gymnemsyre fra *Gymnema sylvestre* i svalerotfamilien (Asclepiadaceae). *Phytolacca dodecandra* i

kermesbærfamilien (Phytolaccaceae) inneholder et saponin (lammatoksin) som virker som et molluskicid som dreper snegler, og har blitt brukt til å bekjempe snegl (*Shistosoma*) som er mellomvert for parasitter som gir bilharzia (shistosomiasis). Steroidsaponiner (C<sub>27</sub>) fra røtter til *Dioscorea*, samt fra soyaolje, brukes av den farmasøytiske industrien til å lage steroidhormoner bl.a. hydrokortison, testosteron og steroider i p-piller.

**Limonoider** er nortriterpener (tatanortripenoider) som inneholder oksygen og virker som antibeitestoff. Neem treet (*Azadirachta indica*) er et eviggrønt tre i slekt med mahogny, som inneholder antiinsektmiddelet azadirachtin, som er et limonoid. jfr. Brihat Samhita. Atharva Veda. *Melia azadirachta* har frukt med giftig limonoid.

**Quassinoider** er dekanortriterpenoider som bare finnes hos arter i bittervedfamilien (Simaroubaceae). Både limonoider og quassinoider lages fra mevalonsyre via euphol eller tirucalol. Limonin er et bitterstoff fra appelsiner.

Taxol fra *Taxus brevifolia* er et terpenoid som er sterkt modifisert og har blitt brukt som middel som hindrer celledeling i behandling av kreft.

## Tetraterpener og karotenoider

Pigmenter som finnes i bakterier, sopp, planter og dyr, ofte bundet til protein. Det er kjent mer enn 500 forskjellige karotenoider som er C<sub>40</sub>-tetraterpener, hvorav minst 150 fra planter, og gir rød, oransje og rød farge. Karotenoider som inneholder oksygen kalles xanthofyller. Gir farge på eggeplomme, laksefisk (astaxanthin), fuglefjær (flamingo får rosa farge fra ketokarotenoider). Crustacyanin gir farge på hummer og kreps. Annato er et fargestoff fra *Bixia orellana*.

## Polyterpener

Polyterpener er isoprenoider bestående av mer enn 40 karbonatomer og inngår i lateksgummi og prenylerte kinoner bl.a. elektrontransportørene plastokinon og ubikinon. Naturgummi fra *Hevea brasiliensis*. Guttaperka er et *trans*-1,4-polyisopren fra arter i frøbuskfamilien (Celastraceae). Chicle er et polyisopren fra sapodilletre (*Manilkara sapota*) og har blitt brukt til tyggegummi.

Dolichol er et langkjedet polyterpenalkohol som frakter sukker i cellevegg og i glykoproteinsyntese.

## Iridoider/monoterpenalkaloider

Iridoider er monoterpener som også finnes i insekter. Finnes ikke i oljekjertler som vanlige monoterpener. Secologanin med loganin som intermediat. Harpagosid. Legevendelrot (*Valeriana officinalis*) inneholder iridoidalkaloider. Actinidin,  $\beta$ -skytanthin, rhexifolin.

## Hjerteglykosider (cardenolider)

Hjerteglykosider har fått navnet fordi de påvirker hjertet ved å hemme  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$  i hjertemuskel. Hjerteglykosidene er som resten av navnet sier bundet til sukker, på samme måte som saponiner. Vanlige i arter i svalerotfamilien (Asclepiadaceae) og gravmyrtfamilien (Apocynaceae).

Hjerteglykosidene deles i to grupper:

1) Bufadienolider som er  $\text{C}_{24}$ -steroider. Først funnet hos *Helleborus* og de har derved fått navn som hellebrin med aglykonet hellbringenin.

2) Cardenolider som er  $\text{C}_{23}$ -steroider.

Hjerteglykosider som ouabain, bufodieneolid fra noen amfibier (frosk) brukt som pilegift, og digioxin fra revebjelle (*Digitalis purpurea*) er steroider som har blitt brukt som hjertemedisiner. Både giftvirkning og medisinsk virkning skyldes at de binder seg til natrium-kalium pumper, hemmer disse og gir økning av natriumkonsentrasjonen, som igjen påvirker konsentrasjonen av kalsium i muskelceller. Ouabain fra *Strophanthus*. Larvene til monarksommerfuglen spiser på planter i svalerotfamilien og den voksne sommerfuglen blir derav giftig og blir ikke spist av fugler. Voksne monarksommerfugl har varselfarger som viser at de er giftig (aposematisk vernefarge). På samme måte som bloddråpesvermer har røde flekker på vingene og inneholder giftige blåsyreglykosider.

Dyr kan bruke planter til sitt eget kjemiske forsvar. Hjerteglykosider i en plante som en insektlarve spiser av kan gi et giftig insekt. Giftige organismer er ofte sterkt farget med en advarsfarge (aposematisk farging) f.eks. rødt/svart. Gjelder også for organismer som biter eller stikker f.eks. gult-svart. Ugiftige er ofte kryptisk farget eller baserer seg på mimikry. Monarksommerfugl (*Danaus plexippus*) legger egg på arter av *Aclepias syrica* (Apocynaceae). Når larvene spiser på plantene får de med seg alkaloidene i den giftige melkesaften. Etter puppestadium klekkes sommerfuglen som også blir giftig pga. giftstoffene larvene har hentet fra plantene. De smaker vondt og på denne måten unngår de predatorer. Monarksommerfuglen har blitt truet ved å spise pollen fra mais som er genmodifisert med Bt-toksin. Pilgiftfrosk er frosk i familien Dendrobatiadae med slekter som *Dendrobates* og *Phylobates* som lever i tropisk regnskog i S-Amerika. De kan ha rød, blå, grønn eller gule farger. Froskene skiller ut gift (alkaloider f.eks. pumiliotoksin C) fra porer i huden. *Phylobates terribilis* inneholder det svært giftige batrachotoxin. En teori går ut på at froskene får giften via insekter som har levd på giftige planter. Pilgiftfrosk kan være avhengig av epifytter fra ananasfamilien (Bromeliaceae) som har vannreservoarer dannet fra bladene, og som froskene legger eggene sine i.

## Cyanogene glykosider (blåsyreglykosider)

Det finnes ca. 50 forskjellige cyanogene glykosider hos plantene og de forekommer blant annet ofte hos arter i rosefamilien. De cyanogene glykosidene finnes i vakuolen i plantecellene, mens enzymene som kan bryte dem ned finnes i cytoplasma. Knuses plantevev bringes substrat og et enzymkompleks kalt emulsin i kontakt med hverandre og det produseres blåsyre. Enzymkomplekset inneholder  $\beta$ -glukosidaser



og hydroksynitril lyase. Når man blader av hegg (*Prunus padus*) mellom hendende kan man kjenne lukten av benzaldehyd.

Hegg inneholder blåsyreglykosidene amygdalin og prunasin, som også finnes i bitre mandler. En  $\beta$ -glukosidase hydrolyserer amygdalin til glukose og prunasin. En  $\beta$ -glukosidase hydrolyserer prunasin til mandelsyrenitril og glukose. Hydroksynitril lyase spalter mandelsyrenitril videre til benzaldehyd og blåsyre. Det er disse siste produktene vi kan kjenne lukten av når bladene knuses.

Kassava (*Manihot esculenta*), også kalt manoi, har stivelsesrike georginelignende rotknoller, og er en viktig matkilde for befolkningen i deler av Afrika. Kassava inneholder imidlertid cyanogene glykosider og disse må fjernes under fremstillingen av kassavamel for å unngå forgiftninger.

Na-pikrinsyrepapir blir rødfiolett hvis HCN er tilstede (Tørr pikrinsyre er giftig og eksplosiv). Dette kan brukes til å studere cyanogenese hos tiriltunge (*Lotus corniculatus*) som er tetraploid eller hos hvitkløver (*Trifolium repens*). Flest cyanogene planter finnes i SV-Europa og minst i NØ. Det viser seg at vintertemperaturen er viktig. Allelet *Ac* gir glukosid, *ac* mangler glukosid, allelet *Li* har enzym og *li* mangler enzym.

## Glukosinolater (sennepsoljeglykosider)

Glukosinolater er thioetere, inneholder svovel, og som det finnes spesielt mye av i korsblomstfamilien. Kål (*Brassica*), sennep (*Sinapis*) og pepperrot (*Armoracia rusticana*) brukes i næringsmidler. Thioglukosidase (myrosinase) spalter glukosinolater når plantevev ødelegges og enzym og substrat kommer i kontakt med hverandre. Myrosinase omdanner glukosinolatene til isothiocyanat, thiocyanater, nitriler og oxasolidin-2-thioner som er bioaktive toksiske stoffer, hvorav noen kan bidra til struma. Raps (*Brassica napus*) med lavt innhold av glukosinolater og erukasyre kan brukes til for etter utpressing av rapsolje fra frøene.

## Ikke-protein aminosyrer

I tillegg til de 20 vanlige proteinamino-syreene inneholder plantene flere enn 400 ikke-proteinamino-syrer. Mange av disse er analoger til vanlige aminosyrer og derav giftige. I slekten flatbelg (*Lathyrus*) er det ikke-proteinamino-syrer som gir neurolathyrinose og osteolathyrinose. Canavanin fra Jackbønner (*Canavalia ensiformis*) og *Dioclea* er en analog til arginin. Azetindin-2-karboksylsyre er en analog til prolin. Frø fra arter i erteblomstfamilien inneholder mange ikke-protein aminosyrer. Hypoglycin i *Blighia sapida*. Mimosin i *Mimosa* og *Leucaena*. 5-hydroksytryptofan fra *Griffonia* er en analog til serotonin. 3,4-dihydrofenylalanin ligner på dopamin. Selen ligner på svovel og erstatter svovel i svovelamino-syreene og danner selenomethionin og selenocystein. Planter som vokser på jord med mye selen blir giftige for dyr som beiter på plantene. *Agrobacterium tumefaciens* som lager krongalle lager spesielle aminosyrer (opiner). Alliin er en svovelamino-syre i hvitløk.

## Acetylenner

Acetylenner inneholder karbon-karbon trippelbindinger og de fleste acetylenner er giftige. Noen acetylenner finnes som C-18 fettsyrer. Acetylenner finnes i arter i ordenen Santalales bl.a. i mistelteinfamilien (Viscaceae) og sandeltrefamilien (Santalaceae). Crepynsyre er et eksempel. Svovel kan binde seg til trippelbindinger og gi opphav til thiofener.

## Spindelgifter

Taxol fra *Taxus brevifolia*, vincristin og vinblastin fra *Cataranthus rosea* og colchicin fra tidløs (*Colchicum autumnale*) binder seg til tubulin, sterkest til tubulin fra dyr. Colchicin har blitt brukt til å lage polyploidi i planter.

## Proteaseinhibitorer

Proteaseinhibitorer er proteiner eller peptider som kan hemme den katalytiske aktiviteten til proteolytiske enzymer (proteaser) . Proteinaseinhibitor 1 hemmer kymotrypsin, og protease inhibitor 2 hemmer kymotrypsin og trypsin. mRNA for protease inhibitorer lages i løpet av 3-4 timer etter skaden . Oligosakkariner og oligogalacturonider er effektive elicitorer.

I en skadet tomatplante spaltes prosystemin (200 aminosyrer) til systemin (18 aminosyrer) som kan fraktes i floem. I floemparenkym bindes systemin til et leucinrikt protein med protein kinase-aktivitet. Systeminreseptoren fosforyleres og aktiverer fosfolipase A2 som gir et signal som starter syntese av jasmonat, ABA og salicylsyre. Det finnes også alfa-amylasehemmere som hemmer alfa-amylase i dyr.

*Ricinus communis* inneholder giftig ricin, et AB-lektin som hemmer proteinsyntese.

Lektiner binder seg til karbohydratproteiner og til epitelceller i mage-tarmkanal.

## Alkaloider

Alkaloider (arab. *al-quali*) er alkaliske, inneholder nitrogen og lages de aromatiske aminosyrene fenylalanin, tyrosin og tryptofan, fra de basiske aminosyrene lysin og arginin, samt ornithin i ureasyklus. De kan også kobles med steroider/terpenoider som secoiridoid (secologanin). Mange alkaloider er fysiologisk aktive og brukes som modell for legemidler.

Man kjenner til over 12.000 forskjellige alkaloider, og de fleste av dem har fysiologisk effekt på dyr, og mange ligner på neurotransmittorer. Noen alkaloider virker som saponiner og løser opp cellemembranen. Opiumsvalmuen (*Papaver somniferum*) gir lateks som inneholder morfin og kodein. Har fått navn etter den greske guden for søvn, Morfeus . Morfin første gang isolert i 1906 av den tyske farmasøyten Friedrich Sertürner. Opiumskrigen mellom Kina og Storbritannia i 1839-1859. Heroin er en halvsyntetisk stoff laget ved å acetylere morfin. Keiser Nero fikk den greske legen

Andromakus til å lage et middel kalt theriak som skulle virke mot forgiftninger og inneholdt en rekke droger bl.a. opium.

En annen tysk farmasøyt Carl Meissner ga stoffene i 1819 betegnelsen alkaloid etter det arabiske *al-qali* som betyr lut, siden de ofte gir basisk reaksjon. Noen alkaloider har karakteristiske farger, og de kan påvises med Dragendorfs reagens. De basiske egenskapene og fettløselighet gjør at alkaloidene kan ekstraheres i sur form fra planter med organiske løsemidler.

## Steroidalkaloider

Poteter inneholder toksiske steroidglykoalkaloider som solanidin (aglykonet) i form av  $\alpha$ -solanin med rhamnose-galaktose-glukose og  $\alpha$ -chaconin med to rhamnose-glukose. Solanin hemmer kolinesterase. Solasodin er et annet steroidalkaloid som finnes i søtvierfamilien (Solanaceae). Tomatidin i tomat. Andre solanumalkaloider er spirostanol, spirostan, tigogenin.

## Pyrrrolizidinalkaloider

Lages fra aminosyren ornithin eller arginin, og finnes ofte som N-oksider som blir omsatt til en giftig form i leveren. Sinobermøll-larven *Tyria jacobaea* lever på landdøya (*Senecio jacobaea*) og blir giftig pga. av pyrrolizidinalkaloider fra planten bl.a. senecionin som den tar opp og beholder under metamorfosen. Heliotrin i *Heliotropium*. *Crotolaria*. Monocrotalin hemmer  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase. Mange pyrrolizidinalkaloider er kreftfremkallende og skyldes alkylering av DNA. Monarksommerfugl (*Danaus plexippus*) inneholder pyrrolizidinalkaloider.

## Tropanalkaloider

Lages fra aminosyren ornithin via intermedietet tropinon. Vanlige hos arter i søtvierfamilien (Solanaceae). Bulmeurt (*Hyoscyamus*) inneholder atropin (blanding av S- og R-hyoscyamin) som øker størrelsen av pupillene. Scopolamin finnes hos piggeple (*Datura stramonium*) og bulmeurt (*Hyoscyamus niger*). Kokain fra *Erythroxylon coca* binder seg til og hemmer opptaket av neurotransmitteren dopamin. *Mandragora officinalis*, *Brunfelsia* og *Brugmansia* inneholder tropan alkaloider.

## Pyrrolidinalkaloider

Blir laget fra aminosyren ornithin og lysin.

## Pyridinalkaloider

Lages fra aminosyren ornithin. Har nitrogen i umettet ring. Nikotin er et pyridinalkaloid i tobakksplanten (*Nicotiana tabacum*) og hemmer enzymet fosfodiesterase som hydrolyserer signalstoffet syklisk AMP (cAMP). Anabasin er et piperidin-pyridin

alkaloid. Ricinin fra castorbønne (*Ricinus communis*). Arecolin fra betelnøttfamilien (*Areca catechu*) i palmefamilien (Arecaceae). I SØ-Asia er det ikke uvanlig å tygge betelnøtter. Arecolin bindes til muscarinreseptoren og etterligner acetylcholin, og gir senket blodtrykk og økt vasodilatering. Trigonellin i *Trigonella*.

## Benzylisoquinolinalkaloider

Kaffein fra kaffe (*Coffea arabica*). Kokain fra *Erythroxylon coca*. Berberin i *Berberis* er et benzylisoquinolin som man kjenner hele biosynteseveien til. Biosynteseveien starter med dekarboksylering av tyrosin som gir tyramin og i reaksjon med dopamin som også kan komme fra tyrosin. Dopamin sammen med p-hydroksyfenylacetaldehyd lages norococlaurin katalysert av norococlaurin syntase. Etterfulgt av flere O- og N-metyleringer med metylgrupper fra S-adenosylmethionin katalysert av metyltransferaser og oksidasjon katalysert av hydroksylase dannes produktet (S)-reticulin. Berberin broenzym omdanner reticulin til scoulerin. Etterfulgt av en metyltransferase og canadinsyntase lages canadinsom som med en oksidase omdannes til berberin.

Den sentrale metabolitten reticulin kan brukes til å lage morfin, papaverin, noscapin og codein i opiumsvalmuen (*Papaver somniferum*); sanguinarin i *Sanguinaria canadensis*; protopin i jordrøyk (*Fumaria officinalis*). Råopium inneholder ca. 10% morfin i tillegg til mer enn 30 andre alkaloider. Morfin og heroin binder seg til opiatreseptoren i kroppen. Morfin og kodein undertrykker hostesenteret i kroppen. Glaucin, taspin, aporphin, sinoacutin, hasubanan, columbamin, protopin, stylopin, narcotin,  $\beta$ -hydrastin, pavin, isopavin, scoulerin, allocryptotin. Svaleurt (*Chelidonium majus*) inneholder chelidonin.

Aristolochinsyre fra *Aristolochia*.

Kurare er en blanding av flere planter brukt som pilegift b.a. tubocurarin fra *Chondrodendron tomentosum* og *Strychnos toxifera*. Emetin fra brekkrot *Cephalis ipecacuanha* i maurefamilien (Rubiaceae) inneholder emetin som har vært brukt til å behandle amøbedysenteri, men har mange bivirkninger. Tubulosin.

Narcissfamilien (Amaryllidaceae) inneholder en rekke alkaloider: lycorin, lycorenin, norpluviin, norbelladin, narwedien, galanthamin, narciclasin, pretazettin.

*Cephalotaxus* i druetaksfamilien (Cephalotaxaceae) inneholder homoerythrinaalkaloider eks. cephalotaxin.

Kinin (quinin) fra kinabarktreet (*Cinchona officinalis*) var et av de første antimalariamidlene, en kunnskap overført fra S-Amerika til vestlige land.

## Quinolizidinalkaloider

Lages fra aminosyren lysin, og er vanlig hos arter i erteblomstfamilien (Fabaceae), spesielt i underfamilien Papilionoideae. Bitter lupin (*Lupinus polyphyllus*) inneholder

giftig lupanin som påvirker beitende dyr. Cytisin og spartein er vanlig forekommende quinolizidinalkaloider. Kan hemme binding av fenylalanin-t-RNA til ribosomene. Cytisin fra meskalbønner (*Sophora secundiflora*). Vanlig gullregn (*Laburnum anagyroides*) inneholder giftig lupinin og cytisin.

Sarpagandharot (*Rauwolfia serpentina*) inneholder ajmalin og har vært kjent fra indisk medisin i 1000 år.

Veratrum-alkaloider som veratramin, jerveratrum, ceveratrum, cyclopamin, cycloposin, jervin, muldanin. Soladininer og veratraminer er to hovedgrupper steroidalkaloider.

## Indolalkaloider

Biosyntesen av indolalkaloider starter med dekarboksylering av tryptofan katalysert av tryptofan dekarboksylase som gir tryptamin. Tryptamin kobles sammen med secoiridoidet secologanin katalysert av strictosidin syntase. og produktet er strictosidin. Secologanin lages fra geraniol. Etter flere enzymatiske trinn omdannes strictosidin til 3 $\alpha$ (S)strictosidin. Dette kan virker som utgangsstoff for indolalkaloider som vinblastin og vincristin fra *Cataranthus roseus*; yohimbin fra *Corynanthe johimbe*; Ajmalin og ajmalicin fra *Rauwolfia serpentina*; stryknin fra *Strychnos nux-vomica*; kinin (quinin) fra *Cinchona officinalis*; vincamin fra *Vinca minor*. Tabersonin, cataranthin, vindolin, ibogamin, reserpin, olivacin, ellipticin,

Andre indolalkaloider fra tryptofan er  $\beta$ -carboliner (harman og harmalin) ble først funnet i *Peganum harmala* (Zygophyllaceae), og virker som serotoninreseptorer og hemmer membrantransport

Physostigmin fra *Physostigma venenosum* hemmer acetylcholinesterase. Physostigmin har blitt brukt til behandling av glaukom. Til denne gruppen hører også ergotalkaloidene ergometrin fra meldrøye (*Claviceps*). Ergotalkaloider er også funnet i planteartene *Ipomoea* og *Rivea*. Ergotisme (st. Antonius ild) er forgiftning som skylder sklerotiene til meldrøye som blandet seg med korn, spesielt rug. Blåtopp er ofte infisert med meldrøyesklerotier.

*Tabernanthe iboga* (Apocynaceae) inneholder ibogaalkaloider. Camptothecin i *Camptotheca acuminata*.

## Indolizidinalkaloider

Swainsonin fra *Swainsona canescens*, *Oxytropus* og *Astragalus*. Castanospermin fra *Castanospermine*.

## Isoquinolinalkaloider

Blir laget fra 3,4-dihydroksytyramin (dopamin). Vanlige i kaktusfamilien (Cactaceae). Meskalin. Lophocerein.

## Piperidinalkaloider

Blir laget fra lysin. Piperidinalkaloider inneholder en mettet heterosyklisk ring (piperidin). F.eks. coniin fra skarntyde (*Conium maculatum*) som var en del av giften i Sokrates giftbeger. Coniin finnes også i *Cassia* og *Prosopis*. Anabasin og anatabin fra tobakk. Piperin fra pepper (*Piper nigrum*). Pipecolsyre blir laget fra lysin.

## Quinazolin alkaloider

Febrifugin fra hortensia (*Hydrangea*) er giftig.

## Pyrroloquinazolinalkaloider

Harmin, vasicin, vasicinon i *Peganum harmala* i kreosotbuskfamilien (Zygophyllaceae)

## Imidazolalkaloider

Lages fra aminosyren histidin. Pilocarpin fra *Pilocarpus jaborandi* minsker pupillstørrelsen, og etterligner acetylkolin og aktiverer det parasympatiske nervesystemet. Pilocarpin har blitt brukt til behandling av øyesykdommen glaukom. *Alchornea* i vortemelkfamilien inneholder imidazolalkaloider.

## Arecaalalaloider

Lages fra aminosyren aspartat. Arecolin fra *Areca catechu*.

## Benzophenanthridinalkaloider

Macarpin fra kaliforniavalmue (*Eschscholzia californica*).

## Acridonalkaloid

Furfolin-I i *Ruta graveolens*.

Andre typer alkaloider er Sesbania-alkaloider, securinega-alkaloider (securinin), pyrazinalalaloider

## Betacyaniner og betaxanthiner

Fra fenylalanin og tyrosin

## Ketoner

Cicutoxin, tremeton, treratol.

## Kinoner

Kinoner er vanligvis fargete forbindelser Ubikinon og plastokinon er kinoner som deltar i transport av elektroner og protoner i henholdsvis respirasjon og fotosyntese. Vitamin K<sub>1</sub> er et **naftokinon** som deltar i fotosyntesen. 2,6-dimetoksy-p-benzokinon deltar i dannelse av hastorier i parasittplanten *Striga asiatica* som parasitterer på *Sorghum*. Det finnes flere enn 200 forskjellige **antrakinoner** ofte farget gule eller røde og vanligvis bundet til sukker som  $\beta$ -glykosider. Alizarin er et fargestoff fra fargeplanten krapp (*Rubia tinctoria*), og er et iso-chorismat. Antrakinoner er vanlig i slireknefamilien (Polygonaceae), tamarindfamilien (Caesalpiniaceae)

## Polyketider

Polyketider finnes hos bakterier, aktinomyceter, alger, lav og sopp, men er ikke så vanlige i planter. Mange av dem er giftige, eks. mykotoksiner, og noen virker som antibiotika. Polyketider er sykliske forbindelser alkylert med med metyl- eller prenyl-sidegrupper, og dannet med aldol- og Claisen-kondensasjon. Fra *Rheum officinale* i slireknefamilien (Polygonaceae) finnes antrakinon-lignende polyketider som emodin og chrysofanol. Emodin finnes også i sopp som *Aspergillus* og *Penicillium*. I arter av hinnebege (*Plumbago*) i hinnebegefamilien (Plumbaginaceae) finnes naftokinon polyketider som plumbagin. Helminthosporin er et oktaketid fra *Helminthosporium gramineum*. T-toksin fra *Helminthosporium maydis* og cytochalasin virker som fytotoksiner. Orsellinsyre er et tetraketid fra lavene *Lecanora* og *Roccella*. Depsider er estere av polyketider. Citrinin er et pentaketid fra *Penicillium citrinum*. Og griseofulvin er et heptaketid fra *Penicillium griseofulvum*. Aflatoksiner fra *Aspergillus* er meget giftige og kreftfremkallende og finnes i soppinfiserte nøtter og kornarter, spesielt fra tropiske strøk.

### Fytoøstrogener

Fytoøstrogener (coumestaner og isoflavoner) er stoffer som ligner på estradiol og gir østrogenlignende effekt på mennesker. Rødkløver (*Trifolium pratense*) inneholder isoflavoner og *Medicago sativa* inneholder coumestaner. Kløver inneholder isoflavoner som biochanin A, daidzein, genistein, og diadzein.

Brennhårene fra brennesle (*Urtica dioica*) inneholder histamin og acetylkolin. *Laporta moroides* (Urticaceae) vokser i regnskog i Australia og inneholder et makrosyklisk opeptid kalt moroidin.

## Endofytter



Det er en rekke sopparter (*Atkinsonella*, *Balansia*, *Balansiopsis*, *Epichloë*, *Myriogenosparae*) som lever inne i planter som endofytter. *Dactylis glomeratus*, *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea* har med endofytter har gitt forgiftninger hos beitende dyr.

## Urtemedisin

Den norske legen Lorents Gran oppdaget en plante *Oldenlandia affinis* (Rubiaceae) inneholdt et oksitokisk stoff kalt Kalata-Kalata som ble brukt av lokale kvinner. Stoffet hadde samme effekt som oxytocin som lages i hypofysen og påvirker fødselsrier. Det viste seg at det aktive stoffet var et syklisk peptid kalt Kalata B1.

Vin Mariani var en blanding av vin og kokain som ble lovprist av mange på slutten av 1800-tallet. Blandingen med kokain og etanol var utviklet av korsikaneren Angelo Mariani (1838-1914).

Kokain er det aktive stoffet i kokaplanten, et stoff som blokkerer reopptak av dopamin i midthjernen. Sigmund Freud skrev *Über Coca* i 1884. De som ble foreskrevet kokain for ikke å bli avhengig av morfin ble avhengig av begge. John Pemberton (1832-1888) oppdageren av Coca Cola baserte først drikken på Vin Mariani "Pemberton's French Wine Coca. Det ble også tilført kullsyre. Asa Candler overtok oppskriftsrettighetene fra Pemberton og grunnla Coca cola i 1892. Etter hvert ble vinen erstattet med sukkersirup og kokain erstattet med ekstrakt fra colanøtten inneholdende koffein.

Det har blitt laget kunstig smertestillende stoffer basert på kokain f.eks. lidocain, og procain. Koffein er et xanthin- eller purinalkaloid som finnes kaffe, te, guarana, maté og sjokoladebønner. Kaffe (*Coffea*) inneholder koffein (koffein) i alle delene av planten, og kaffebønnene inneholder ca. 1% koffein sammen med klorogensyre. Te (*Camellia/Thea sinensis*) inneholder koffein og mindre mengder theobromin og theofyllin. Kakao (*Theobroma cacao*) inneholder theobromin. Efedrin fra *Ephedra* ligner på adrenalin og binder seg til adrenalinreseptoren og kan inngå i urtemedisin av tvilsomt opphav. Steroidsaponiner finnes også i *Tribulus terrestris*.

Peyote/hikuli (*Lophophora williamsii*) er en kaktus som inneholder alkaloidet mescaline. Ble brukt av indianere i mellom-Amerika til en hikuli-kultus. Forfatteren Aldous Huxley eksperimenterte med den farlige giften og skrev boka *Erkjennelsens grenser*.

Solhatt (*Echinacea purpurea*)

I kinesisk urtemedisin inngikk lakris, ginseng, kanel, ingefær, rabarbra, bær fra *Shizandra*, jujube (*Ziziphus jujuba*), aprikosfrø og bark av magnolia (*Magnolia officinalis*).

Efedrin fra planten kalt ma huang (*Ephedra equisetina*) har blitt brukt i mange hundre år i kinesisk urtemedisin til å behandle luftveisplager. Efedrin ligner på adrenalin og binder seg til adrenalinreseptoren. Amfetamin er narkotikum som har strukturlikheter

med efedrin.

Laudanum var en blanding av opium og alkohol som ble brukt som smertestillende middel. Det fantes allerede fra Paracelsus dager.

## Aminer

Enkle aminer lages fra dekarboksylering av aminosyrer eller transaminering av aldehyder. Aminer kan også forekomme som amider. Gramin, hordenin og tryptamin er eksempler på aminer i grasfamilien. Hordenin er et aminalkaloid fra bygg (*Hordeum vulgare*) laget fra fenylalanin via tyrosin og tyramin. Diaminet cadaverin laget fra lysin og homoarginin er funnet hos arter i erteblomstfamilien. Diaminet putrescin blir laget fra arginin og ornithin.

Putrescin og polyaminene spermidin og spermin har viktige reguleringsfunksjoner i plantene. Både diaminer og polyaminer virker som organiske polykationer og kan bindes til DNA og RNA, spesielt i plastider og mitokondrier hvor DNA ikke er stabilisert av histoner. Polyaminer deltar i celledeling, ved dannelse av røtter og knoller, og utvikling av blomst, frukt og embryo. Det trengs mM konsentrasjoner for at polyaminer skal gi virkning. Dekarboksylert S-adenosylmethionin virker som propylamindonor. S-adenosylmethionin (SAM) dekarboksyleres og gir S-metyl-S-adenosylcysteamin katalysert av SAM dekarboksylase. Propylaminogruppen overføres via enzymet putrescin aminopropyltransferase. Aspartat  $\beta$ -semialdehyd kan også virke som propylaminodonor og kan være en alternativ syntesevei til spermidin og homospermidin.

Meskalkaktus (peyote) (*Lophophora williamsii*) inneholder meskalin som kan gi hallusinasjoner. Efedrin fra *Ephedra*-arter virker adrenerg og påvirker sentralnervesystemet, blodtrykk og bronkioler. I øst-Afrika tygges khat (quat, kat) som narkotisk stoff fra khatbusken (*Catha edulis*) i frøbuskfamilien (Celastraceae). Innholder bl.a. cathinon og catamin som ligner på efedrin.

## Plantehormoner

Plantehormoner er en gruppe av naturlig forekommende, organiske signalstoffer som i små spormengder påvirker vekst, differensiering, stoffomsetning og utvikling i plantene. I samvirke med omgivelsesfaktorer vil endringer i hormonkonsentrasjon og plantevevets følsomhet for hormoner styre utviklingsprosesser. Hormoner påvirker prosesser i celler ved å binde seg til hormonreseptorer. Endokrine hormoner blir fraktet fra et sted til et annet. Parakrine hormoner binder seg til reseptorer i celler nær syntesestedet. Uttrykket hormon kommer fra gresk og brukes i dyrefysiologien for å beskrive et kjemisk signalstoff. Den opprinnelige meningen til ordet er "å sette i bevegelse" eller "å stimulere".

Duhamel du Monceau gjorde ringbarkingseksperimenter i 1758 som viste at det var stofftransport både oppover og nedover i en plante. Både sårkallus og røtter ble

dannet over ringbarkingsstedet. Årsaken til dette måtte skyldes noe som ble fraktet i innerbarken. I 1880 foreslo Julius von Sachs at organdannende stoffer produseres i planten. Sachs mente at kjemiske signalstoffer var ansvarlig for utvikling og vekst av planteorganer. Disse stoffene kalles i dag plantehormoner eller plantevekstregulatorer. Samtidig oppdaget Darwin i arbeid med koleoptiler at et signal, lys, ble mottatt av en reseptor i spissen av koleoptilen, og det var en signaloverføring som til slutt ga en respons, koleoptilen bøyd seg mot lyset. Beyerinck skrev i 1888 en artikkel om organdannende substanser. Han studerte bladvepsen *Nematus capreae* som la egg på blader av selje og han foreslo at det måtte være et stoff som kom ut av eggene og ga galler på planten. 40 år seinere viste det seg at stoffet var indol-3-eddiksyre.

I mange år trodde forskerne at det var næringstilgangen som regulerte plantenes utvikling. Det klassiske forsøket av Kraus og Kraybill 1918 ga opphavet til denne feilaktige **næringsteorien**. De studerte endring av forhold mellom karbohydrater og nitrogen (C/N)-forholdet og hvordan dette forholdet påvirket veksten av tomater. De fant at store mengder nitrogen og lite karbohydrat ga vegetativ vekst. Omvendt forhold ga blomstring og fruktsetting. Dette er noe vi kan observere: kraftig nitrogengjødsling gir mye bladverk, men lite frukt og blomster.

Plantehormonene kan flytte seg fra et sted til et annet innen planten. Plantehormonene må ikke nødvendigvis transporteres vekk fra produksjonsstedet for å gi virkning. De kan virke på stedet hvor de syntetiseres, selv innen samme celle. Transport er altså ingen nødvendig egenskap for et plantehormon. Det finnes både vekststimulerende og vekstreduserende stoffer.

Arbeid med plantesykdommer førte frem til oppdagelsen av gibberelliner. Vevskulturer foranlediget oppdagelsen av cytokininer. Kontroll av bladavkastning og hvile ga oppdagelsen av abscisinsyre. Den opprinnelige identifiseringen skjedde med unntakelse av abscisinsyre fra annet materiale enn planter: auxin fra urin, gibberellin fra soppkulturfiltrat, cytokinin fra autoklavert sildemelke, og etylen fra lysgass.

Arbeidet med å finne virkningsmekanismene for plantehormonene har vært vanskelig og tidkrevende. Dette skyldes bl.a. at samme hormon kan gi forskjellige effekter på forskjellige planter. Oppdagelsen av plantehormonene har basert seg på **bioassay**, hvor en spesifikk biologisk respons på levende materiale kan registreres ved tilføring av lave konsentrasjoner av et hormon.

Vi kjenner i dag til seks hovedgrupper med hormoner: auxiner, gibberelliner, cytokininer, etylen, abscisinsyre og brassinosteroider. I tillegg er det oppdaget strigalakton som deltar i apikal dominans. Jasmonat, salicylsyre og polypeptidet systemin er signalmolekyler som deltar i forsvar mot patogener, og kalles ikke hormoner. Flavonoider kan virke som signalstoff i symbiose med mikroorganismer.

Den molekylære genetikken som fikk sin oppblomstring fra begynnelsen av 1980-tallet viser at det er mange felles signaloverføringsveier (signaltransduksjon) hos planter og dyr, men noen er ulike og viser ulike evolusjonære utviklingsretninger. Dyr, som kan bevege seg, er styrt av indre signaler. Plantene er stedbundet, og prosesser som spiring, utvikling av blader og blomster er styrt av ytre signaler. Felles signalveier omfatter styring via kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), pH, lipidsignaler, reseptorkinaser på cellemembranen og G-protein koblede reseptorer. Responsen er genekspressjon, endring i cytoskjelett og enzymaktivitet. G-protein koblede reseptorer (GPCR) som

finnes i dyr og deltar i overføring av signaler fra lukt, syn og hormoner, er heterotrimer G-proteiner, men man har ikke funnet GPCR i planter. Det er mulig å skru av eller forsterke en signalrespons og regulering kan skje ved negativ eller positiv tilbakekobling. Det er kryssregulering av signalveier, noe som gir komplekse ikke-lineære nettverk, som inngår i en del av systembiologien. **Systembiologi** er studiet av organismer og underliggende nettverksstruktur, med strukturelle og funksjonelle bindinger. Systemet kan være metabolismeveier, signalveier, celler, organer eller organismer.

## Auxiner

### Auxinets historie

Auxin var det første plantehormonet som ble oppdaget.

Selv om Charles Darwin er mest kjent for sin evolusjonsteori er han, sammen med sønnen Francis, den som startet den moderne forskningen om plantehormoner, publisert i boka *The power of movement in plants* fra 1880. Der beskrev Darwin forsøk hvordan koleoptiler til etiolerte frøplanter av *Phalaris canariensis* bøyde seg mot lyset. Med Darwins egne ord: "*we must therefore conclude that some influence is transmitted from the tip to the more basal regions of the shoot thereby regulating growth and inducing curvature*". "Influence" skulle vise seg å være et auxin.

Koleoptilen er et blad som danner en hul sylinder som omslutter det første bladet og er festet til en knuteformet basis (nodium). Koleoptilen beskytter bladet mot skader når frøplanten vokser igjennom jorda. Koleoptilen er svært følsom for lys. I mørke og ved jevn belysning vokser koleoptilen og bladet rett oppover. Ved lys fra en side vender koleoptilen seg mot lyset, i noen tilfeller vekk fra lyset. Koleoptiler er følsomme for både lys (fototropisme) og tyngkraft (gravitropisme). Når toppen av koleoptilen er dekket til med en lystett folie bøyer den seg ikke. Slike eksperimenter viste at spissen av koleoptilen mottok lyssignalet, mens bøyningen skjedde nedenfor spissen. Et signal måtte derfor bli transportert fra spissen og som deretter ga bøyning litt lenger ned.

Salkowski oppdaget i 1885 indol-3-eddiksyre (IAA - Indol Acetic Acid) i fermenterte vekstmedier. Boysen-Jensen viste i 1913 at det lysinduserte stimulus kunne transporteres gjennom gelatin, men ikke gjennom glimmer. Han plasserte en blokk med gelatin mellom toppen av koleoptilen og den gjenværende stumpe. Han brukte også en glimmerskive for å stoppe transporten, som var mer effektivt enn i Fittings forsøk. Fitting lagde i 1907 innsnitt i havrekoleoptiler i fuktig miljø, slik at snittflatene ikke tørket ut før de ble presset sammen. En glimmerskive på mørkesiden ga ingen bøyning. Paal bekreftet Boysen-Jensens resultater i 1918 om at vekststimulus er et kjemisk stoff. Strekingen stoppet hvis koleoptilespissen ble fjernet. Ble spissen satt på igjen, men assymmetrisk, ga dette bøyning av koleoptilen selv om den stod i lys som kom fra alle kanter. Det var den nederlandske plantefysiologistudenten Frits W. Went som i 1928 oppdaget et stoff som påvirker bøyning av havrekoleoptiler. Went utviklet et metode for kvantifisering av plantevekststoffet, koleoptile-bøyningsassay for auxin. Koleoptilespissen produserte et vekststimulerende signal. Spissen av en

havrekoleoptiler ble plassert på gelatin. Went viste at bøyning skjedde med en gelatinblokk som hadde mottatt vekststoffet auxin fra koleoptilespissen. En gelatinblokk med vekststoff kunne også gi bøyning hvis blokken ble plassert assymmetrisk på avkuttete koleoptilespisser. Bøyningen var innen visse grenser proporsjonal med mengden aktiv substans. Mye av dagens kunnskap om det vanligst forekommende auxinet indol-3-eddiksyre, kalt IAA, baserer seg på studier av bøyningen av havrekoleoptiler.

F. Kögel og A.J. Haagen-Smit fra Holland startet fra 33 gallons med human urin og under rensingen testet de hvert trinn med bøyningstesten på havrekoleoptiler. De isolerte 40 mg av et stoff de kalte auxin A (auxentriolic acid). Det inneholdt også et annet auxin, heteroauxin, det som vi nå kjenner som indol-3-eddiksyre og som ble initielt oppdaget av Salkowski i 1885. Det var K.V. Thimann i USA som fant strukturen på indol-3-eddiksyre. Kögel isolerte også indol-3-eddiksyre fra gjær, men det var først i 1946 at Haagen-Smit og medarbeidere isolerte indol-3-eddiksyre fra endospermen av umodne maiskorn. Auxin A, og det seinere auxin B fra urin var ikke noe naturlig auxin.

## Generelt om auxin

Navnet auxin kommer fra det greske *auxein* som betyr å vokse. Auxin medvirker i mange prosesser i planten. Indol-3-eddiksyre er den vanligste av de naturlige auxinene. IAA er amfipatisk med et hydrofilt og hydrofobt område. Andre eksempler på auxiner er indol-3-smørsyre og 4-klor-indoleddiksyre. Fenyleddiksyre gir også auxineffekt.

Indoleddiksyre lages i aktivt voksende vev som skuddmeristem, knopper, bladprimordier, ekspanderende blad, frukt og frø som utvikler seg, og i pollen. Auxin påvirker celledeling i kallus i nærvær av cytokinin, strekning av koleoptiler og stengelbiter, fototropisme, gravitropisme, apikal dominans, dannelse avrøtter og adventivrøtter, etylenproduksjon, fruktutvikling, partenokarpi, kjønnsbestemmelse, membranpotensial og induksjon og aktivering av enzymer f.eks. H<sup>+</sup>-ATPase. Røtter er mer følsomme for auxin enn skudd. Auxinindusert ACC syntase er forskjellig fra enzymet som dannes ved såring, hvor mekanisk skade gir rask etylensyntese.

Transportretningen av auxin er vesentlig polar og basipetal, dvs. fra skuddspiss til basis. I røtter skjer transporten fra basis til rotspiss. Transporten kan skje fra celle til celle og noe langdistansetransport i floemet fra eldre blad til andre deler av planten. Auxin beveger seg med 5-30 mm per time i skudd og fra 1-2 mm per time i rot. En kjemosmotisk transport av auxin dominerer.

## Måling av auxin

Auxin kan påvises, på lik linje med andre plantehormoner, via bioassay. Bøyning av havrekoleoptiler (*Avena* koleoptiler) er et mye brukt bioassay for auxin. Forøvrig kan det brukes tynnsljikt-kromatografi (TLC), høytrykksvæskekromatografi (HPLC), gasskromatografi (GC), og massespektrometri (MS). Radioimmunoassay baseres på at IAA bindes til et stort protein som injiseres i kanin. Dyret produserer antistoffer mot proteinet. Antistoffene isoleres og renses. Disse kan brukes i radioimmunoassay

(RIA) eller ELISA.

## Biosyntese av indoleddiksyre

Synese av IAA skjer i meristemer og ungt delingsvev. Auxin fra bladkanter til basis og sentral del følger den basipetale modningen av bladet. Auxin finnes i fri form i planten eller bundet til andre stoffer. Frø og lagringsorganer inneholder kovalent bundet auxin. Indoleddiksyre (IAA) kan lagres som bl.a. IAA-glukosid, IAA-myoinositol, IAA-aspartat. Mange planter inneholder IAA oksidase som kan bryte ned indoleddiksyre. Katabolismen (oksidasjonen) gir oksindol-3-eddiksyre. Indoleddiksyre lages fra aminosyren tryptofan via flere forskjellige biosynteseveier. I tillegg er det en biosyntesevei som ikke går via tryptofan.

Biosynteseveien via indol-3-pyruvat er viktigst:

### Indol-3-pyruvatveien:

Først skjer en deaminering av tryptofan katalysert av tryptofan aminotransferase og produktet er indol-3-pyruvat. Deretter følger en dekarboksylering katalysert av en dekarboksylyase som gir indol-3-acetaldehyd. Indol-3-acetaldehyd oksideres til indol-3-edikksyre katalysert av en oksidase. Indol-3-eddiksyre kan omdannes til indol-3-smørsyre i reaksjon med acetyl-CoA katalysert av indolsmørsyre syntase

### Tryptaminveien:

Tryptofan dekarboksyleres til tryptamin. Enzymet tryptamin oksidase gir indol-3-acetaldehyd.

Indol-3-acetaldehyd oksideres til indol-3-edikksyre katalysert av en indolaldehyd dehydrogenase.

### Indol-3-acetonitrilveien:

Tryptofan omdannes først til indol-3-acetaldoxim. Indol-3-acetaldoxim gir videre indol-3-acetonitril. En nitrilase overfører indol-3-acetonitril til indol-3-edikksyre. Viktig syntesevei i gras-, korsblomst- og ananasfamilien.

### Indol-3-acetamidveien:

Dette er biosynteseveien som brukes av sykdomsfremkallende (patogene) bakterier (*Pseudomonas* og *Agrobacterium*). I denne synteseveien omdannes tryptofan til indol-3-acetamid katalysert av en monooksygenase. Indol-3-acetamid hydrolase katalyserer neste trinn som gir indol-3-edikksyre.

### Tryptofan-uavhengig vei

Det finnes en mutant av mais (*orp* - maize orange pericarp) som mangler genet for enzymet tryptofan syntase og er en tryptofan auktotrof mutant som må tilføres tryptofan for å leve. Til tross for dette inneholder mutanten mye indoleddiksyre. Mutanten akkumulerer anthranilat og oransjegul indol. Indoleddiksyre lages da

sannsynligvis fra indol eller fra indol-3-glycerolfosfat.

IAA lages i kloroplastene og er fordelt med ca. 1/3 i kloroplastene og resten i cytosol. Det er en bakteriell syntesevei fra tryptofan med indol-3-acetamid som mellomprodukt i bakterierene *Agrobacterium* og *Pseudomonas*.

## Auxin i bundet form

Mesteparten av IAA i planten finnes i bundet (konjugert) inaktiv form. Det meste av fritt auxin finnes i skuddspissen, men forøvrig finnes auxin i hele planten. IAA finnes både i cytosol, kloroplast og andre kompartementer i cellen. Det kan være som glukoseester katalysert av enzymet uridin-5'-difosfatglukose-indol-3-acetyl-D-glykosyltransferase. IAA kan også være bundet til *myo*-inositol eller til aminosyren aspartat (IAA-N-aspartat). IAA kan også bindes til glukaner (IAA-glukan), glykoproteiner og peptider. Ved spiring av mais fraktes IAA-*myo*-inositol fra endosperm til koleoptile via floemet. Indolsmørsyre-konjugater og indolsmørsyre kan omdannes til IAA i peroksysomene via  $\beta$ -oksidasjon.

## Nedbrytning av auxin

Nedbrytning av IAA skjer via oksidering. IAA kan omdannes til 3-metylenoksidindol katalysert av en dekarboksylase, med sidekjede som er blitt ett karbonatom kortere. Nedbrytning kan også skje via oksindol-3-eddiksyre.

## Polar transport av auxin - fra skuddspiss til basis

Indoleddiksyre fraktes ved **polar transport** basipetalt fra spiss mot basis i vaskulært parenkym i xylemet. Den polare transporten (2-20 cm/time) er avhengig av energi, går raskere enn diffusjon, men saktere enn floemtransport.  $\text{IAA}^-$  kan ikke passere membranen, men det kan protonert IAAH som er lipofil og kan fraktes i sur apoplast. Skuddspissen er primærkilden for auxin i hele planten. I unge bladprimordier hos *Arabidopsis* akkumuleres auxin i skuddspissen, og ettersom bladet utvikles akkumulerer auxin i bladkanten, og auxin brer seg innover mot bladplata basipetalt på samme vis som bladet vokser. Auxin akkumulerer på steder som skal bli til hydatoder.

Transporten skjer polart fra celle til celle hvor auxin fraktes inn og ut av celler, dvs. ikke direkte via symplasten. Auxintransporten i rota skjer i stelen mot spissen av rota. Auxin i pericykel stimulerer vekst av siderøtter. Det kan også skje litt basipetal auxintransport fra rotspissen hvor transporten skjer i cortex og eventuelt i epidermis. En **kjemiosmotisk modell** protondrivende kraft forklarer polar auxintransport. Indoleddiksyre fraktes inn i cellen drevet av en gradient i ladning ( $\Delta E$ ) og pH ( $\Delta \text{pH}$ ). Frakt ut av cellen er drevet av  $\Delta E$  (membranpotensialet). Sur cellevegg (ca. pH 5) gjør at indoleddiksyre er i protonisert form med syregruppen  $-\text{COOH}$ , og kan derved diffundere gjennom fosfolipiddobbeltlaget i membraner. Inne i cellen er pH høyere og indoleddiksyre finnes der i ioneform og kan ikke derved passere fritt gjennom membranen. Auxinbærerne som frakter indoleddiksyre ut av cellene sitter i den



basale delen av cellene. Det skjer sekundær aktiv transport av IAA via  $\text{IAA}^{-2}\text{H}^{+}$  symporter, en auxin permease.  $\text{IAA}^{-}$  akkumulerer i cytosol og det skjer anioneffluks vha. **Auxin-anion effluksbærer** (PIN-protein) lokalisert til den basale enden av cellene. **PIN-protein** har 10-12 transmembranområder og PIN blir aktivt resirkulert og nysyntetisert. PIN-familien består av PIN1-8.

IAA fraktes mellom plasmamembranen og endosomer vha. aktin.

Det skjer ikke-polar auxintransport i floem via passiv kild-sink, og er viktig for dannelse av siderøtter, celledeling i kambium, og i syntese eller nedbrytning av kallose i floem.

Opptak av auxin skjer med **auxin innfluksbærer**, kalt auxin permease (AUX1), hvor genet blir uttrykt i kolumella, den laterale delen av rothetta, samt i protofloem i stelen. AUX1 deltar i import av auxin inn i vaskulært parenkym og opptak av auxin i skuddspissen. AUX1 ligner bakteriell aminosyrebærer som frakter basiske aminosyrer. I tillegg til PIN er P-glykoprotein (MDR/PGP-protein) en annen type ATP-avhengig hydrofob auxin anion effluksbærer. Det er 17 forskjellige PGP i Arabidopsis og ris som deltar i vevsspesifikk auxintransport.

Auxintransporten er regulert via protein fosforylering (protein kinase) og defosforylering (fosfatase). *PINOID* koder for en protein kinase og mutanten *pinoid* ligner mutanten *pin1*.

Det er flere syntetiske stoffer som hemmer den polare transporten av indoleddiksyre. Auxin effluks inhibitorer NPA (1-N-naftylftalamsyre), TIBA (2,3,5-trijodbenzoesyre), gravacin, CPD (syklopropyl propandion), og auxin innfluks inhibitor NOA (1-naftoksyeddiksyre). En gruppe av auxinefflukshemmere, kalt **fytotropiner**, er laget av benzoesyre bundet til et annet aromatisk ringsystem, og gir forkrøplet vekst, hemmet rotvekst, og tap av fototropisme og gravitropisme. 1-pyrenoylbenzoesyre og NPA virker som fytotropiner. Det finnes naturlige fytotropiner e.g. curcumin, og flavonoider (genistein (isoflavonoid) og quercetin og kaempferol (flavonoler) som hemmer auxintransport og hemmer hydrolyse av ATP, kinaser, fosfataser og ABCB transportører.

## Auxin og fototropisme

Plantene står jordfast, men har allikevel mulighet til å flytte på stengler, blad og blomster. Bevegelsene kan skyldes tilvekst. I andre tilfeller er det rene saftspenningsbevegelser (turgorbevegelser) hvor vann vandrer inn og ut av spesielle celler med tynn vegg. Det er ytre stimuli som lys, temperatur, gravitasjon eller mekanisk påvirkning som fremkaller bevegelsene. Vi kan dele bevegelsene inn i tropismer og nastier. Tropismer er bevegelser hvor bevegelsesretningen hos planten er avhengig fra hvilken retning det ytre stimuli kommer. Nastier er bevegelser hvor bevegelsesretningen er uavhengig av retningen på det ytre stimuli og er bare avhengig av plantedelens konstruksjon. Plantene kan også ha krumningsbevegelser i døde eller levende celler i forbindelse med frøspredning.

Fototropisme kalles det fenomen når plantene bøyer seg mot eller fra lyset og i denne prosessen deltar auxin. Fototropisme og gravitropisme virker samtidig. Ved bøyning

mot lyset vil gravitropismen forsøke å rette opp planten. Den siden av en plante som belyses vokser saktere enn skyggesiden. I de fleste tilfellene bøyer plantene sine blader og blomster mot lyset (positiv fototropisme), enten det er gress på en nysådd gressplen eller blomsterplanter ute eller i vinduskarmen. I noen tilfeller stilles bladets overside vinkelrett mot lyset som hos blomkarse, og bladet følger sola over himmelen som et radioteleskop. Prossen for bøyning mot eller vekk fra lyset er kompleks. Fotofluensen gir respons på bøyning av koleoptilen kan deles inn i først positive mot lyset, første negative vekk fra lyset og andre positive mot lyset igjen. Første og andre positive fase kan også være atskilt av en nøytral fase hvor det ikke skjer noen bøyning i det hele tatt. Første positive bøyning følger resiprositetsloven, men det gjør ikke andre positive fase.

**Cholodny-Wents hypotese** for fototropisme er den som best forklarer mottak av lys i skuddspissen og lateral transport av auxin over til skyggesiden. Ved ensidig belysning flyttes auxin raskt over på skyggesiden ved basipetal transport. På skyggesiden av planten forårsaker auxin økt vekst slik at planten bøyer seg mot lyset. Lys gir ikke fotodestruksjon av auxin på lyssiden. Det har tatt lang tid å vise at hypotesen med lateral refordeling og asymmetri i auxinkonsentrasjon er korrekt.

Det må dessuten finnes et lysregistrerende system siden lys må fanges opp ved absorpsjon før det skjer en respons. Det lysregistrerende pigmentet har blitt kalt kryptokrom, det skjulte pigment, som deltar når planter bøyer seg mot lyset. Navnet har det fått fordi ingen klarte å beskrive og isolere dette fargestoffet fra plantene. Fargestoffet er gult og absorberer bare blått og fiolett lys, ikke grønt, gult eller rødt. Sammenlignes fargen på det virksomme lyset for fototropisme med aktuelle fargestoffer i planten tyder det på at kryptokrom må være et flavin eller karotenoid. Karotenoidene har en karakteristisk 3-finger aksjonsspektrum og mengden av karotenoidet zeaxanthin er korrelert med fototropisk bøyning, uten at det behøver å være noen sammenheng.

Molekylærbiologiske studier med mutanter av *Arabidopsis* hvor blått lys ikke gir redusert strekning, indikerer et flavoprotein som fotoreseptor. Sekvensering av involverte gener har sekvenslikhet med fotolyaser, som er fotoreaktiveringsenzymmer som reparerer thymindimerer etter UV-skader. Fotolyaser inneholder blåttlysabsorberende flaviner. **Fototropiner** er autofosforylerende protein kinaser som aktiveres av blått lys og deltar i fototropisme. En gradient i fosforylering av fototropin 1 og fototropin 2 gjør at auxin fraktes mot skyggesiden, og fraktes så basipetalt langs strekningssonen som gir økt vekst på skyggesiden. Fosforylering gjør at proteinet dissosieres fra plasmamembranen Apoplastforsuring på skyggesiden gir større transport av auxin på skyggesiden, med tilhørende økt opptak av auxin og økt strekning. Det skjer ikke fotodestruksjon av auxin på lyssiden. Mengden auxin som diffunderer ned fra koleoptilespisser satt ned på agar støtter hypotesen. Apoplast pH på skyggesiden er mer sur enn på lyssiden.

NPH1 (nonphototropic hypocotyl) er en autofosforylerende protein kinase stimulert av blått lys og proteinet selv blir fosforylert i blått lys. Det er en gradient i fosforylering av NPH1 fra lyssiden til skyggesiden. I blåttlysrespons deltar i tillegg to løselige apoproteiner CRY1 og CRY2 som kan binde flaviner. Genet som koder for disse har

sekvenslikhet med en fotolyase. Kinasen virker nedstrøms for proteinene CRY1 og CRY2. Forflytning av auxin hemmer ABCB19, destabiliserer PIN1 og påvirker PIN3.

## Bladmosaikk - en form for fototropisme

Bladmosaikk er en form for fototropisme hvor planter forsøker å plassere bladene slik at de dekker hverandre minst mulig. Skyldes også anisofylli. Bladmosaikk er vanlig hos lønn, alm og villvin. I områder med meget strek solinnstråling forsøker plantene å plassere bladene parallelt med solstrålene slik at de får minst mulig lys. De sistnevnte kalles for skyggeløse planter. Auxin kan regulere fyllostaksis.

## Auxin og gravitropisme

Plantene reagerer på gravitasjonskreftene, kan orientere seg i rommet og registrere hva som er opp og ned (gravitropisme). Det første kritiske fasen ved frøspiring er at rota vokser nedover og skuddet oppover, og gravitasjonskreftene er signalet som registreres. Røttene vokser i samme retning som tyngdekraften virker (positivt gravitropiske). Skuddet vokser oppover (negativt gravitropisk). Dette gir en vertikal orientering av planten. I visse tilfeller skjer veksten i en spesiell vinkel i forhold til tyngdekraften, som greinene på et grantre. Veksten kan også være vinkelrett på akselen for tyngdekraftens virkning; som for utløpere hos jordbær, og jordstengler og røtter som vokser bortover like under jordoverflaten. Hos grenene på bartrær lages det ofte mer ved på undersiden (reaksjonsved) av en tung gren slik at grenen skyves i rett stilling. Dannelse av reaksjonsved på greiner er et fenomen hvor tyngdekraften deltar, men hvor forklaringen på hvordan det skjer er ukjent. Hos løvtrærne avsettes mest ved på oversiden av tunge utoverhengende greiner slik at grenen trekkes i rett stilling.

Vi vet lite om hvilke prosesser som skjer i andre vinkler enn vertikal orientering.

Legges en plante horisontalt vil etter en tid rota vokse nedover og skuddet oppover. Cholodny-Wents hypotese kan også forklare gravitropisme. Koleoptilespissert plassert horisontalt mottar signal fra gravitasjonen og det skjer en refordeling og forflytning av auxin ned mot undersiden av koleoptilen og spissen begynner å vokse vertikalt. IAA refordelles jevnt hvis rota står vertikalt, men hvis rota blir plassert horisontalt blir IAA fraktet ned til undersiden. Refordeling av auxin i rota skjer via auxin effluksbærer (PIN3). Flavonoider er lokalisert i strekningsområder i frøblad/skuddspiss, i overgangen hypokotyle og rot, i strekningssonen i rot og i rothetta, og flavonoider hemmer effluks av IAA. Rota responderer annerledes enn skuddet på samme konsentrasjon av auxin. Det er mulig at auxin fra rothetta inhiberer og høy konsentrasjon av auxin i rota hemmer vekst. Absciscinsyre har også vært foreslått som en mulig vekstinhibitor, men mye tyder på at IAA virker som inhibitor i rota. Dette gir størst vekst på oversiden av rota som så bøyer seg nedover. I tillegg deltar kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), kalsium-kalmodulin og pH i gravitropisme hos røtter. EGTA som chelaterer kalsium hemmer rotgravitropisme og assymmetrisk fordeling av auxin. Ved endring registrert av gravitropisereseptorer skjer det i løpet av minutter en endring i

intracellulær pH. Apoplast pH synker fra pH 5.5 til 4.5, og i cytoplasma i kolumelle stiger pH fra pH 7.2 til pH 7.6. Det skjer en aktivering av  $\text{Ca}^{2+}$  avhengig  $\text{H}^+$ ATPase. Når kalsiumkanaler aktiveres går det signal fra rothetta til strekningssonen.

Auxinmolekylene har for liten størrelse til å kunne registrere tyngdekraften direkte. Det er spesielle samlinger stivelseskorn omgitt av membraner (amyloplaster) kalt **statoliter** som mottar signalet om gravitasjonsretningen. Statolitene finnes i spesielle rothetteceller i kolumella. I stengelen finnes statolitter i en sone rundt ledningsstrengene i skuddspissen. De spesielle gravitasjonsregistrerende cellene som inneholder statolitter kalles **statocyter**. Mikrofilamenter stabiliserer statolittene. Cytoskjelettet aktin registrere at cellekjerne og andre organeller ikke lenger står vertikalt. Kontaktpress av amyloplaster mot endoplasmatisk retikulum er en del av signalveien. Det kan også finnes **strekkreseptorer** som er mekanofølsomme ionekanaler, og planter inneholder strekkaktiverte kalsiumkanaler. Stivelsesskjeden rundt ledningsstrengene er kontinuerlig med endodermis i rota. Endodermis har ikke statolitter og er ikke nødvendig for gravitropisme.

Hos gras er det noe annerledes. Blir et gras liggende horisontalt skjer det tilvekst på undersiden av de øverste knuteaktige leddene (nodiene) på stengelen slik at gresset bøyer seg opp igjen. Det er dette som skjer når kornåkeren etter å ha blitt klappet flat av nedbør (legde) er i stand til delvis å reise seg igjen. *Chara* alger mangler tilsynelatende statolitter men det er mulig at hele protoplasma virker som statocyt. I *Chara*-alger kan krystaller med bariumsulfat virke som statolitter.

Gravitropisme i hypokotyle fra soyabønne gir akkumulering av små auxinoppregulert mRNA (SAUR). En horisontalt plassert hypokotyle gjør at SAUR akkumuleres på undersiden, samt GH3 akkumuleres på oversiden og hypokotylen bøyer seg oppover.

Mutanter som ikke responderer på gravitropisme kalles agravitropiske mutanter. Mutantene *aux1* og *agr1* (agravitropic) er agravitropiske, og mutanten *agr* mangler auxin effluksbærer relatert til PIN2. Auxin fraktes ut av stele via PIN/PGP mediert effluks, og AUX1 formidlet opptak. IAA lages i rotmeristem, men slipper ikke inn i rothetteapikalceller pga. PIN3, PIN4 og ABCB1. AUX1 auxinopptak i laterale rothetteceller gir basipetal transport av auxin ut av rotspissen. PIN-protein resirkuleres raskt mellom plasmamembranen og sekretoriske vesikler. PIN3 refordes og gir økt auxintransport på nedsiden av rothette. Scarecrowmutant (*scr*) av *Arabidopsis* mangler endodermis og stivelsesskjede. Hos *scr*-mutanter er både hypokotylen og blomsterstanden agravitropisk. Det finnes mutanter med amyloplast-uavhengig gravitasjonsregistrering.

## Apikal dominans - toppskuddet hersker over sideskuddene

Auxin deltar i apikal dominans. Apikal dominans betyr at sideskuddene på en plante hindres å bryte frem så lenge som toppskuddet er intakt. Først når toppskuddet har vokst seg vekk fra sideknoppene blir sideskuddene utviklet. Auxin produsert i toppskuddet hindrer sideskuddene i å vokse frem. Mest ekstremt sees den apikale dominansen hos et grantre. Granskuddet ender i en knoppsamling bestående av

endeknopp og 4-5 sideknopper. Om våren vokser endeknoppen rett opp og hindrer sideskuddene i å overta ledelsen. Sideskuddene vokser i en bestemt skråstilling. Andre planter med velutviklet apikal dominans er geitrams, kanadagullris, solsikke og ask.

Den direkte inhiberingsmodellen for apikal dominans utviklet av Kenneth Thimann og Folke Skoog i 1920 baserte seg på at fjernes toppen av en plante fjernes også produksjonsstedet for auxin og en rekke sideskudd bryter frem. I plantefysiologiske studier av apikal dominans kan auxin løst i lanolin på snittflaten erstatte endeknoppen til en visse grad. Vi benytter oss av dette ved å kappe av toppskudd når vi skal ha rikere forgrening på busker, blomster og trær. Tilgang på næring og lys påvirker den apikale dominansen. Lin har sterk apikal dominans hvis det er lite nitrogen og praktspragle (*Coleus*) i vinduskarmen grener seg mer i sterkt lys.

Kuttet endeknopp vil det etter en tid bli økt auxinsyntese i snittflaten, men dette er ikke nok til å erstatte den avkuttete spissen.

Det viser seg imidlertid at etter kappingen av et toppskudd øker auxinkonsentrasjonen i sideknoppene slik at det kan ikke være bare auxin i seg selv som direkte hemmer sideknoppene. Hvis inhiberingsmodellen hadde stemt skulle vi ha forventet lavere konsentrasjon av auxin i sideknoppene, men det omvendte skjer. Det er også et samvirke mellom auxin fra skuddspissen og plantehormonet cytokinin fra røttene. Fjernes skuddspissen blir sideknoppene et mer aktivt sluk for auxin. Dessuten finnes abscisinsyre i hvilende sideknopper, og dekapitering av toppskuddet gjør at konsentrasjonen av abscisinsyre i lateralknoppene minsker. Høy konsentrasjon av auxin gjør at konsentrasjonen av ABA holder seg høy i sideknoppene, og ABA hemmer vanligvis plantevekst.

Dessuten deltar **strigolakton** i apikal dominans som signal ved utvekst av sideknopper. Strigolakton er et terpenoid-lakton som lages fra karotenoider i skudd og røtter og fraktes i xylem. Strigolakton lages av vertsplanten og gir vekst av frø fra parasittplanten *Striga*, og lager strukturer som er gunstig for mykorrhiza.

## Auxin, vekst og cellestrekning

Mengden endogent auxin er størst i strekningssonen. Derved får man liten effekt på strekningen av koleoptiler eller stengelsegmenter hvis man tilfører planten auxin fra utsiden. Auxin kan i mørkespirte koleoptiler til og med gi hemming av strekningen. Fjernes derimot spissen av koleoptile eller skudd vil stengelbiten respondere på tilført auxin. Den optimale auxinkonsentrasjonen er fra  $10^{-5}$  -  $10^{-6}$  M. Den hemmende effekten av auxin ved større konsentrasjoner skyldes auxinindusert etylensyntese. Strekningen av røtter hemmes imidlertid av auxinkonsentrasjoner som gir strekning i skudd. Det er ingen gode eksperimenter som har vist at auxin gir stimulering av strekningsveksten i røtter. Det er den ytre delen av vevet i stengelen som responderer på auxin ved strekning. Auxin og forsuring av celleveggen gjør at celleveggstrukturen kan løsne katalysert av proteiner kalt **expansiner** og øker utvidelsesmuligheten i vegg. Den cellevegggløsnende faktor ekspansin gir svakere bindinger mellom polysakkarider i vegg. Vekst forårsakes av osmotisk opptak av vann over plasmamembranen som følge av en gradient i vannpotensial. Vannopptak gir økt

turgortrykk. Turgortrykket i cellen er fra 0.3-1 MPa. Auxin deltar når plantecellene vokser i størrelse. Utskilt  $H^+$  i celleveggen gjør veggstrukturen løsere (**sur vekst hypotesen**).

$$vekstrate = m(\Psi_p - Y)$$

Hvor  $m$  er ekstensibilitet (utvidelse),  $Y$  er en grenseverdi og  $\Psi_p$  er turgortrykk. IAA øker  $m$  via  $H^+$  og minsker  $Y$ .

Det er mulig å hemme veksten ved tilsetning av buffere som nøytraliserer denne surgjøringen. Når veggstrukturen blir løsere blir trykkpotensialet i cellen mindre positivt. Vannpotensialet blir derved mer negativt og dette gjør at mer vann kan komme inn i cellen som derved vokser i størrelse. Auxin surgjør veggen ved å aktivere eller nysyntese av  $H^+$ -ATPase i plasmamembranen, regulert av et ER-lokalisert auxinbindende protein, en repressor. Transglukosylase, et enzym som overfører sukker fra et polysakkarid til et annet, gjør at molekylene i celleveggen kan gli langs hverandre. Ekspansiner får celleveggen til å løsne ved sur pH ved å svekke hydrogenbindingene mellom molekylene. Ved for lavt turgortrykk stopper celler å vokse. Cykloheximid som er et stoff som hemmer proteinsyntese hemmer også auxinindusert transport av  $H^+$  ut i veggen. Sopptoksinet fusicoccin stimulerer protonutskillelse og vekst. Dette skjer ved at fusicoccin aktiverer en  $H^+$ ATPase.

Hvis koleoptiler splittes på langs og legges i kunstig i en løsning som inneholder indoleddisyre (auxin) så vil de krølle seg hvis epidermis ikke er fjernet. Et cellelag under epidermis påvirker cellestrekning. Indre cortex strekker seg raskere enn det ytre og splittede koleoptiler bøyer seg innover. Det samme gjelder splitting av internodier fra unge erteplanter på langs. Når disse legges i vann krøller de seg på samme måte som splittede koleoptiler, men tilføres auxin vil cellelag under epidermis utvide seg og de splittede internodiehalvdelen vil krølle seg innover og graden er proporsjonal med auxin konsentrasjonen. Auxin virker bare på de cellene som inneholder auxinbindende proteiner som mottakere. Bindingen av auxin til auxinbindende proteiner setter igang en kaskade effekt som gir økt strekning. Minimum lagtime for auxinvirkning er 10 minutter.

## Auxin blomst- og fruktutvikling

Utvikling av blomstermeristem er avhengig av auxin fraktet til fra subapikalt meristem. Polar transport av auxin er nødvendig for utvikling av blomster i blomsterstandmeristem.

Auxin produseres i frø og er nødvendig for normal utvikling av frukt. Utvikler bare den ene halvdelen av et eple seg skyldes dette sannsynligvis at det ikke finnes frø i den halvdelen av eplet som ikke vokser. Pollinering gir vekst av fruktknuten og fruktsetting. Frukt kan også utvikle seg uten at frø er tilstede. Fenomenet kalles partenokarpi og er velkjent fra druer, appelsiner og bananer. Behandles fruktknuten i en blomst med auxin eller gibberellin kan den partenokarpe frukten vokse til normal størrelse uten at det har skjedd noen pollinering. Jordbær dannes ved at blomsterbunnen svulmer opp. Oppsvulmingen skyldes bl.a. auxin fra frøene. Fjernes



frøene (nøtter) på utsiden av bæret stopper bæret å utvikle seg. Påsmøres bæret et auxin etter at frøene er fjernet vil bæret utvikle seg tilnærmet normalt.

## Auxin induserer dannelse av vaskulært vev

Auxin virker som et induksjonssignal for å danne vaskulært vev som transporterer vann og grunnstoffer fra jorda. Om våren er auxin fra unge blad og knopper med på å vekke opp vekstlaget (kambiet) i stammen til ny aktivitet basipetalt, og sekundærveksten starter først i de minste greinene.

Ved såring av stengel eller stamme blir parenkym i cortex redifferensiert til xylem og floem. Såring gir først flere runder med celledelinger av cortex, og deretter dannes ledningsvev. Auxin kommer fra bladet over såringsstedet. Fjernes disse bladene dannes det ikke noe ledningsvev i sårvevet. Vaskulært vev differensieres under knopper som utvikler seg og under unge blad. Hvis en knopp podes på et kallus gir det differensiering av vaskulært vev under knoppen. Høy konsentrasjon av auxin gir xylem og floem, og lav konsentrasjon av auxin gir floem i kallus. I stengelen vil høy konsentrasjon av auxin gi xylem og lav konsentrasjon av auxin gir floem.

## Auxin og rotdannelse - hvorfor røttene dannes ved basis

For å kunne formere mange planter er det viktig å få dannet røtter på det avkuttende skuddet. Adventivrøtter kommer fra stengel. Etter kutting av et planteorgan starter sårhelingen raskt. De ytre cellelagene dør og lager en beskyttende overflate og xylemet plugges igjen for å hindre uttørking og inntrengning av sykdomsfremkallende organismer. Bak dette beskyttende laget deler parenkymceller seg lager kallusvev, som er en såringsperiderm. Dannelse av kallus og røtter er to uavhengige prosesser. Flere steder på planten ligger det latente intitalceller som kan danne røtter. Disse ligger vanligvis i hvile inntil det blir bruk for dem. Adventivrøttene blir dannet like utenfor ledningsstrengene eller fra levende parenkymceller i det sekundære floemet, men de kan også komme fra margstråler, kambium, floem, lenticeller eller marg. Selje (*Salix sp.*) danner lett røtter.

Noen planter kan formeres via blad. Saintpaulia lager nye planter fra sekundære meristem, kalt såringsmeristem. Hos *Bryophyllum* kan det lages planter fra primære meristemer langs bladranden.

Et skudd danner skudd mot skuddspissen og røtter nærmest koblingen skudd/rot. Stikling er en del av en plante som utvikler seg til en ny plante og gir vegetativ formering. Snittflaten settes i et fuktig substrat og det dannes adventivrøtter nær snittflaten. Dannelsen av adventivrøtter på stengelen stimuleres av auxin. Dette skyldes at auxin akkumuleres like over såringsstedet pga. av polar transport. Indolsmørsyre og naftalenedikksyre er mer effektive til å danne røtter enn indolekksyre.

Siderøtter lages fra celler i pericykel over streknings- og rothårssonen. Dannelse av siderøtter stimuleres av høy konsentrasjon av auxin, men rotstrekning hemmes av høy auxinkonsentrasjon. Auxin stimulerer en gruppe celler i pericykel til å dele seg. IAA transporteres akropetalt mot pissen i det vaskulære parenkym i røttene, og er nødvendig for celledelingen i pericykel. Det dannes en ny rotspiss fra celler som deler seg, vokser ut gjennom rotbarken (cortex) og danner siderøtter. Siden auxin



transporteres polart fra skuddspiss til basis vil alltid auxinkonsentrasjonen bli høyest ved basis, selv om skuddet snus opp ned.

*alf* (Aberrant lateral root formation)-mutanten av *Arabidopsis* gir ekstrem proliferasjon av adventivrøtter og siderøtter.

*Agrobacterium rhizogenes* er en bakterie som gir ekstrem utvikling av adventivrøtter på planter.

## Auxin og avkasting av blad og frukt

**Absisjon** er avkasting av blad, blomsterblad eller frukt. Generelt løsner festet mellom celler ved avkasting av blad og frukt, ved åpning av pollenknappene, aerenkyndannelse og ved rothetta. Auxin forsinker vanlig avkasting av blader på et tidlig utviklingsstadium av bladet. Det er høye konsentrasjoner av auxin i unge blad. Absisjon blir stimulert av lavere auxinkonsentrasjon i eldre blad og auxin gir økt bladavkasting på et seinere utviklingsstadium i samvirke med etylen. Det dannes en absisjonssone ved basis av stilken til blad eller frukt og det dannes et absisjonslag i absisjonssonen. Bruddet skjer i et avkastingslag (fellingslag) mellom stengel eller grein og stilken. Ved bladaldring nedbrytes celler i avkastningslaget og lager en svakhetssone. Epler og pærer kaster vekk en andel av frukten før den er ferdig utviklet ("preharvest drop"). Fjerning av bladplaten og påsmøring av auxin i lanolinpasta på snittflaten på bladstilken hindrer avkasting av bladstilken.

## Syntetiske auxiner og herbicider

Industrien har laget flere syntetiske auxiner som har praktisk betydning innen landbruk og hagebruk. F.eks. indol-3-smørsyre i talkumpulver som brukes til å få røtter på skuddstiklinger. Naftaleneddiksyre har vært brukt til tynning av eplefrukt. Den kjemiske strukturen som gir auxinvirkning har en negativ ladning på en syregruppe på en sidekjede ved nøytral pH, atskilt av en positiv ladning på en ringstruktur ca. 0.5 nm unna.

Fenoksyeddiksyre brukes som middel mot bredbladet ugras, og etterligner IAA virkning. Enfrøbladete planter er mindre følsomme og inaktiverer syntetisk auxin via konjugering, samt reseptorene har mindre affinitet for syntetisk auxin. De kan derfor brukes til ugrasbekjempelse i kornåkre. Eksempler er 2,4-diklorfenoksyeddiksyre (2,4-D, kreftfremkallende), MCPA og dicamba (2-metoksy-3,6-diklorbenzoesyre). De kan fremkalle epinasti på bredbladete planter på samme måte som IAA. Den ukontrollerte veksten av 2,4-D kan skyldes etylenøkning, og flere axineffekter kan skje via etylen. Brukes auxiner som ugrasmiddel vokser ikke plantene seg til døde. Noen deler av planten vokser raskere slik at stengelen vrir seg. Derformerte blader og stengler etter auxinsprøytning skyldes epinastisk vekst via etylen. Enzymer som styrer vekst blir også ødelagt.

"Agent orange" er en blanding av fenoksyeddiksyrene 2,4,-D og n-butylester av 2,4,5-T som ble brukt som løvfellingsmiddel i stor skala av amerikanerne under Vietnamkrigen. I ettertid fant man mange skader på befolkningen som skyldes dioksiner som var med som en forurensning i 2,4,5-T. 2,3,8,9-tetraklorodibenzo-para-

dioksinin var et biprodukt under syntesen av 2,4,5-T.  
Syntetiske auxiner kan indusere partenokarp frukt.

PCIB ( $\alpha$ -p-klorfenoksyisosmørsyre) virker som et **antiauxin** og interferer med bindingen av auxin til en receptor.

## Galler, auxin og cytokinin

Auxin induserer celledeling i kallusvev sammen med cytokininer. I cellyklus uten auxin stopper cellene i enden av G<sub>1</sub>- eller G<sub>2</sub>-fase. Auxin kan stimulere syntese av cyklinavhengige protein kinaser. Cykliner regulerer overgangen fra G<sub>1</sub> til S-fase og fra G<sub>2</sub> til mitose. Mitogenaktivert protein kinase (MAP) aktiveres av auxin og induserer celledeling.

Transport DNA (T-DNA) fra det tumorinduserende plasmidet (Ti-plasmid) hos bakterien *Agrobacterium tumefaciens* som gir krongalle på planter, inneholder to gener *iaaH* og *iaaM* som deltar i syntesen av indol-3-eddiksyre/IAA fra tryptofan. I tillegg inneholder T-DNA gener for syntesen av cytokinin.

## Auxin - fra reseptorbinding til fysiologisk respons

PIN, auxin effluks proteiner, er viktig for fordeling og transport av auxin i planten, både polar transport og apikal transport i skuddmeristemet. PIN1 gir akkumulering av auxin. Graden av fosforylering av PIN styres av en kinase PINOID og en fosfatase PP2. Auxin kan binde seg til proteiner på plasmamembranen, endoplasmatisk retikulum og tonoplasten. Auxinreseptorene er F-boks løselige proteiner tilhørende TIR1/AFB protein som regulerer nedbrytning av proteiner via ubiquitin-proteasomveien. Når auxin bindes til reseptoren blir AUX/IAA repressorprotein merket med ubiquitin og sendes til nedbrytning av proteosom. Ubiquitin deltar i signaltransduksjonsveiene for gibberellin (ubiquitinerings av DELLA-repressorprotein), jasmonat (ubiquitinerings av JAZ repressor) og IAA. Gibberellin, jasmonat og IAA går ikke veien om membranbundet reseptorkinaser, men virker i stedet direkte på kjernelokaliseringsrepressor.

Ubiquitinaktiverende enzym gir en ATP-avhengig adenlylering av C-terminal ende av ubiquitin. Adenlylert ubiquitin overføres til cystein på neste enzym. Reseptor-enzymkompleks aktivert av auxin hydrolyserer transkripsrepressor som gir aktivering (derepresjon) av auxinresponderende gener. TIR1 (transportinhibitor resistant 1) er et auxin F-boks bindende protein, en del av E3 ubiquitin ligase (SCF). E3-ligase er et kompleks bestående av Skp, cullin, F-boks SCF og F-boksprotein (COI1). Ubiquitinerings skjer ved at E1-ligase overfører ubiquitin-tag til E2-ligase. TIR1 bindes direkte til auxin. Auxin signal F-boks protein (AFB) er en del av E3 ubiquitin ligase. H<sup>+</sup>ATPase gir rask cellestrekning ved forsuring. Hovedreseptoren for auxin er løselig heterodimerproteiner i TIR1/AFB-familien. Når auxin bindes til TIR1/AFB-AUX/IAA heterodimer så stimuleres nedbrytningen av AUX/IAA.

Det finnes tidlige auxininduserte gener som styrer vekst og utvikling og stimulerer SAUR-gener, seinere auxininduserte gener deltar i stressadaptering bl.a. via

enzymene glutathion-S-transferase (GST) og ACC syntase.

**Auxin responsfaktorer** (ARF) er kortlevete kjerneprotein som binder seg til sekvensen TGTCTC i **auxinresponderende element** i promoter til primære (tidlige) auxinresponsgener. Binding av ARF til auxinresponselement gir aktivering eller represjon av gentranskripsjon. Auxininduserte gener er negativt regulert av regulerings AUX/IAA proteiner. **AUX/IAA** er en genfamilie for kortlevete transkripsjonsfaktorer. To familier med transkripsjonsregulatorer deltar i TIR1 auxin signalvei: auxinresponsfaktorer og AUX/IAA protein. AUX/IAA protein er sekundære regulatorer i auxininduserte genuttrykk. Når konsentrasjonen av IAA stiger over en bestemt konsentrasjon gir dette nedbrytning av AUX/IAA repressor. I Arabidopsis finnes 29 AUX/IAA proteiner. AUX/IAA regulerer transkripsjon indirekte ved å binde seg til ARF som allerede er bundet til DNA. Hvis ARF er en transkripsjonsaktivator vil binding av AUX/IAA protein repressere transkripsjonen, og hvis ARF bundet til auxinresponderende element er en transkripsjonsrepressor så vil AUX/IAA fungere som en transkripsjonsaktivator som aktiverer genuttrykk. Auxinbinding til TIR1 aktiverer nedbrytning av AUX/IAA protein via ATP avhengig binding av ubiquitin og nedbrytning i proteasom. Auxinreseptor SCF<sup>TIR1</sup>, en ubiquitin E3 ligase, går inn i cellekjernen. Nedstrøms for ARF er det uttrykk av transkripsjonsfaktorene PLETHORA (PLT). PLT gir uttrykk av *SCARECROW* (SCR) og *SHORTROOT* (SHR). Etylen kan påvirke transporten av auxin ved å endre aktivitet og forekomst av AUX1 opp og PIN-effluks, spesielt i utvikling av siderøtter.

PIN1 blir resirkulert mellom plasmamembranen ved basis av cellene og endosomer via aktin i cytoskjelettet. Studier av proteintrafikken kan gjøres med brefeldin A som påvirker eksocytose og sekresjon av protein via ADP ribosylering og guanin nukleotid utbyttningsfaktor (GNOM). Trafikken av PIN er regulert av protein kinasen PINOID som virker som en utviklingssvitsj. PIN1 er korrelert med auxintransport i det apikale meristemmet i skuddet. Mutanten *pin1* lager ikke bladprimordier.

LAX3 gir opptak av auxin i cortex i rota og gir endring av celleveggen.

Fyllotaksis er styrt av auxin via plassering av PIN-reseptorer. Hos tofrøbladete planter lages det et flatt dorsiventralt blad med adaksial overside, abaksial underside (dorsal-ventralt). Denne bladformen er styrt av *PHANTASTICA* og *ASYMMETRIC LEAVES* (AS1) som koder for MYB-transkripsjonsfaktorer som gir nedregulering av KNOX. ABC-transportører (ATP-bindende kasett) er integrerte membranproteiner, mer spesifikke enn tilsvarende hos dyr, og PGP (ABCB) deltar i vevsavhengig auxintransport. ABCB4 kontrollerer mengden auxin i rothår som strekker seg.

AXR1 er et protein som er nødvendig for mottakelse av et auxinsignal. AXR1 finnes i xylem og sklerenkym mellom ledningsstrengene (interfascikulært) i stengel. AXR1 regulerer flere typer SCF ubiquitin E3-ligase.

Fra dyr kjenner man til en signalvei bestående av G-proteiner, fosfolipase C, inositol-3-fosfat (IP<sub>3</sub>) som resulterer i åpning av Ca<sup>2+</sup> kanaler og økt konsentrasjon av Ca<sup>2+</sup> i

cytosol. Fettsyrene blir frigitt fra fosfolipidene via enzymet fosfolipase A<sub>2</sub> som er første trinn i syntesen av jasmonat. Hos dyr via eicosanoidveien som fører frem til syntesen av prostaglandiner. Fra dyr kjenner man til prostaglandinstimulert celledeling av prostaglandinavhengig adenylylcyklase som lager cAMP.

Hos planter skjer det en økning av konsentrasjonen av cAMP i S-fasen av cellyklus. Auxin kan gi virkning ved å påvirke syntesen av mRNA. Kloning av cDNA sekvenser som aktiveres av auxin gir kloner som kan brukes til å lage radioaktive cDNA prober. Man kan derved gjøre studier av hybridisering av radioaktive cDNA prober til totalmengden mRNA etter forskjellig tid etter at auxin er tilsatt. Et slikt eksperiment går ut på å isolere mRNA fra auxinbehandlet vev og kontrollvev. Deretter lages cDNA fra mRNA. cDNA settes inn en kloningsvektor (plasmid /lambdafag vektor) som overføres til en bakterie. Videre lages cDNA bibliotek på agarskåler. Noe av bakteriekoloniene overføres til nitrocellulosepapir som kan hybridiseres med <sup>32</sup>P-cDNA fra vev som er behandlet med auxin eller ikke. Etter autoradiografi kan man plukke ut positive kloner.

Slike forsøk viser at auxin påvirker genekspressjon. Genteknologifirmaet Affymetrix® har laget genomtriser (genchips) for flere tusen gener hos *Arabidopsis thaliana* som bl.a. kan brukes til å studere virkningen av hormoner på genuttrykk.

Primære responsgener (tidlige gener) aktiveres av allerede eksisterende transkripsjonsfaktorer. Noen gener koder for proteiner som regulerer transkripsjonen av sekundære responsgener kalt seinere gener. Gener som man vet kan induseres av auxin er genfamilien SAUR (small auxin upregulated RNAs) som deltar i fototropisme og gravitropisme.

Andre auxininduserbare gener koder for glutathion S-transferase, ACC syntase, og ACC oksidase som induseres under stress.

Auxinbindende protein 1 (ABP1) i ER er et protein som er nødvendig for auxinavhengig cellytrekning via H<sup>+</sup>ATPase. Gravitropisme hvor gravitasjonskreftene registreres av statoliter i statocyster i kolumella i rothetta virker via refordeling av reseptoren PIN3, en auxin-effluks bærer.

*In vitro* translasjon kan også brukes for å studere hvilke proteiner som lages i nærvær av auxin. Først isoleres polyA mRNA. Isolert mRNA sammen med et cellyfritt proteinsyntesystem fra hvetekim som inneholder ribosomer, tRNA, 20 aminosyrer, <sup>35</sup>S-methionin og ATP brukes til å lage protein. Ved hjelp av 2-dimensjonal separering av proteiner ut fra molekylvekt og ved isoelektrisk fokusering kan man bestemme hvilke proteiner som påvirkes av plantehormonet.

Auxinresponderende domener i DNA kan studeres ved at promoteren til auxingener settes foran et reporter-gen f.eks. luciferase (LUC), β-glukuronidase (GUS) eller grønt fluorescerende protein (GFP). Cykloheximid stimulering av genekspressjon har vært brukt som tegn på at det lages kortlevet repressorprotein.

## Gibberelliner

### Gibberellinets historie

Allerede på 1800-tallet oppdaget Japanske bønder at noen risplanter var lengre enn andre. De lange plantene var klorotiske og sterile og laget derved ikke riskorn. Sykdommen ble kalt *bakanae*. De første forsøkene i 1904 av Hori viste at økt strekningsvekst var forårsaket av en sopp som han trodde tilhørte slekten *Fusarium*. Sawada mente i 1912 at sykdommen skyldes sopphypene, men det var Kurosawa i 1926 som foreslo at det var et stoff fra soppen som ga økt strekning av plantene. Wollenweber viste i 1931 at *Gibberella fujikuroi* var det perfekte seksuelle stadiet og at det imperfekte aseksuelle stadiet var en art av *Fusarium*. I 1935 var det mulig for japanske forskere å isolere gibberellin fra filtrat fra soppkulturer av *Gibberella*. De laget urene krystaller som ble kalt gibberellin A og gibberellin B. Disse resultatene ble gjenoppgaget av forskere i vesten etter den 2. verdenskrig. På 1950-tallet ble strukturen til gibberellinsyre funnet av en forskergruppe ved Imperial Chemical Industries (ICI) i England og en gruppe ved USDA, Peoria i Illinois i USA. Takahashi og Tamura ved Tokyouniversitetet viste at det var tre forskjellige gibberelliner i gibberellin A: GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub> og GA<sub>2</sub>. Det viste seg at GA<sub>3</sub> og gibberellinsyre var like. GA<sub>3</sub> var det første kommersielle gibberellin og ble kalt gibberellinsyre. I 1958 fant man gibberellin GA<sub>1</sub> i umodne frø fra bønner (*Phaseolus coccineus*). Idag kjenner man til 136 forskjellige gibberelliner, de fleste av dem er mellomprodukter. Gibberellinene har fått nummer i den rekkefølgen de ble oppdaget og beskrevet. Generelt er det mye gibberellin i umodne frø, opptil 1 ppm, mens det er fra 1-10 ppb i vegetativt vev.

## Generelt om gibberellin

Alle gibberelliner har *ent*-gibberellan skjelett bestående av fire tetrasykliske ringer. Gibberellin tilført kunstig utenfra gir ofte økt internodievekst i intakte planter. Lokalisering av hydroksylgrupper på molekylet, oksidasjonstrinn og stereokjemi er viktig for virkningen av gibberelliner. Gibberelliner inneholder 19 eller 20 karbonatomer, *ent*-gibberellan-skjelett gir C<sub>20</sub> og *nor*-gibberellan-skjelett gir C<sub>19</sub>. C<sub>19</sub> gibberelliner har en  $\gamma$ -laktoring mellom karbonatom 10 og 19, og mangler karbonatom 20. Sidegruppene kan være metyl-, hydroksyl-, hydroksymetyl-, karboksyl- og aldehyd.

Gibberelliner finnes i hele planteriket, hos angiospermer, gymnospermer, bregner, brunalger, grønnalger, sopp og bakterier. Det skjer regulering av transkripsjon, biosyntese og mengde bioaktivt gibberellin i vev og organer i de forskjellige utviklingsstadier.

Gibberelliner lages i unge skudd i aktiv vekst og i frø som utvikler seg. Under frøutviklingen er innholdet av gibberellin høyt, men det synker når frøet modner. Gibberellinintermediater kan fraktes fra meristematisk vev til blad hvor sluttversjonen av gibberellin blir laget. Røtter kan lage gibberelliner. De mest aktive C<sub>19</sub>GA som gir strekning av internodier er GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub> og GA<sub>7</sub>. Felles for disse er et 4-10 lakton, syregruppe ved C<sub>6</sub> og 3-hydroksyl i  $\beta$ -posisjon.

Gibberelliner påvirker en rekke prosesser i plantene:

- 1) strekning av stengel, økt internodielengde og cellevekst.
- 2) vekst av blomsterstand og blomstring hos toårige planter som danner en rosett

første året.

3) frøspiring og frøhvile med GA-ABA antagonisme. GA kan erstatte kulde og lys i bryting av frøhvile.

4) partenokarpi og fruktsetting og fruktutvikling.

5) knoppvile

6) GA gir utvikling av pollenblad og vekst av pollenslange. Hannsterilitet kan reverseres med GA

7) kjønnsuttrykk. Enkjønnete planter er genetisk bestemt, men hos agurk, hamp og spinat kan GA gi hannblomster

8) overgang fra vegetativt (juvenilt) ungdomsstadium til eldre (adult) reproduktivt stadium. GA4 og GA7 virker hos bartrær.

Gibberelliner hører med til gruppen terpenoider (terpenoidbiosynteseveien) bygget opp av isopren bestående av fem karbonenheter. Forkomponenten til gibberelliner er et diterpen som inneholder 4 isoprenenheter. Det finnes en rekke veksthemmende stoffer (**vekstretardanter**) som hemmer biosyntesen av gibberellin og gir redusert strekning.

Veksthemmende stoffer stopper plantenes evne til å lage gibberelliner (CCC (cycocel (også kalt stråforkorter), klorocholinklorid), klormeqat, Amo 1618, fosphon D, Alar, mepiquateklorid, piperidium brom, pyrimidin forbindelser (ancymidol, A-Rest®), triazol forbindelser (paclobutrazol, Bonzil®)). Vekstretardantene har stor økonomisk betydning i hage- og landbruk. Petunia, julestjerne, liljer, *Chrysanthemum* og *Azalea* blir korte kompakte pryddplanter etter behandling med stoffer som reduserer strekningen. Veksthemmende stoffer brukes også i kornåkere for å få kortere strå og mindre legde. Ønsket om redusert sprøytemiddelforbruk har gjort at planteforedlere har krysset fram kornsorter med kortere strå lengde. Behandling med høyere temperatur om natten enn om dagen kan gi kortere pryddplanter og redusert sprøytemiddelforbruk.

Dvergsorter av planter blir korte fordi evnen til å lage gibberelliner er redusert. Stilken hos rabarbra og stangselleri og drueklasene på vinrankene blir større og lengre etter behandling med gibberellin. Tilført gibberellin som øker stilk lengden på frøløse druer gir bedre plass i klasen og derved større druer.

Jordbærplanter som sprøytes med gibberellin vil kunne gi tidligere jordbær, noe som betyr høyere pris på markedet. Nåletrær kan blomstre etter 4 - 6 år istedet for 20 hvis de blir behandlet med gibberelliner (GA<sub>4</sub> + GA<sub>7</sub>). Dette har betydning for skogforskere som arbeider med å skaffe frø fra trær med gode egenskaper.

Siden gibberellin påvirker blomstring tror vi at biosyntese av gibberelliner må ha noe å gjøre det det hypotetiske blomstringshormonet "florigen".

Gibberelliner kan brukes i framstillingen av malt fra spirende byggkorn som skal brukes i ølproduksjon.

Umodne frø og unge blad inneholder mye gibberellin. . Gibberellin fremmer spaltingen av stivelse og øker plastisiteten i celleveggen.

De vanligst brukte **bioassay** for gibberelliner er:

- 1) strekning av hypokotylen hos salat.
- 2) strekning av dvermutanter av ert.
- 3) strekning av nodier hos gras.
- 4) strekning av bladskjeden hos dvergris.
- 5) syntese av  $\alpha$ -amylase i aleuronlaget hos bygg.

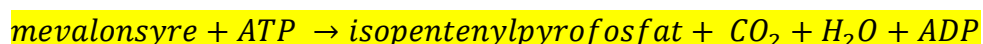
Et bioassay er kvantifisering av et stoff eller ekstrakt etter hva slags biologisk virkning som oppnås.

GA<sub>3</sub> forekommer sjelden i planter, men kan erstatte GA<sub>1</sub> i bioassay for gibberellin.

## Biosyntese av gibberellin i planter

Gibberellin er et diterpen satt sammen av fire enheter isopren laget via terpenoidbiosynteseveien. GA-homeostase styrer mengden gibberellin ved biosyntese, deaktivering, nedbrytning, konjugering og transport. Gibberellin regulerer sin egen syntese ved negativ og positiv tilbakekobling, og gibberellin lages i alle planteorganer. Auxin regulerer biosyntesen av gibberellin. Biosyntesen skjer i tre trinn lokalisert til reaksjonsrommene plastider, endoplasmatisk retikulum og cytosol. De første trinnene i syntesen av gibberelliner skjer i plastider fra glyceraldehyd-3-fosfat pluss pyruvat. Isopren som trengs til gibberellinsyntesen lages i form av **isopentenylpyrofosfat** (IPP). I plastidene settes fire isoprenenheter sammen og danner lineært geranylgeranyldifosfat (GGPP) som ved ringdannelse gir *ent*-kauren via copalyldifosfat. I ER omdannes en-kauren trinnvis til GA<sub>12</sub>. I endosperm i frø kommer IPP fra mevalonsyre via acetyl-CoA.

Mevalonsyre som kommer fra acetyl-CoA fosforyleres to ganger til mevalonsyre-5-pyrofosfat katalysert av henholdsvis **mevalonsyre kinase** og **fosfomevalonsyre kinase**. **Difosfomevalonsyre dekarboksylase** dekarboksylerer i en ATP-avhengig reaksjon og lager **isopentenylpyrofosfat** (IPP):



**Isopentenylpyrofosfat isomerase** katalyserer isomerisering mellom IPP og **dimetyllallylpyrofosfat** (DMAPP). Sammenkobling av IPP og DMAPP og kondensering danner **geranylpyrofosfat** (C10). Geranylpyrofosfat er utgangspunkt for syntese av monoterpener, men kan reagere ytterligere med IPP og danner **farnesyl pyrofosfat** (C15). Farnesylpyrofosfat kan brukes til å lage sesquiterpener eller kan reagere med enda et molekyl IPP og gir til slutt **geranylgeranyl pyrofosfat** (C20) som kan brukes til å lage diterpener.

Første trinn består i å lage en tetrasyklisk ringstruktur fra geranylgeranylpyrofosfat som ender opp i enantiomeren **ent-kauren** i to enzymatiske trinn. Enzymene som katalyserer reaksjonen er en cyklase (copalyldifosfat syntase, CPS) og *ent*-kauren syntase, og reaksjonen skjer i plastider. Det er dette trinnet som hemmes av vekstretardanter (AMO1618, CCC, Phosphon D - kvartære ammonium- og fosfoniumforbindelser). Neste hovedtrinn er oksidasjon og syntese av **GA<sub>12</sub> aldehyd**. GA<sub>12</sub>-aldehyd blir laget etter oksidasjon av metylgruppen på karbonatom 19 i *ent*-



kauren og sammentrekning av den midterste av B-ringen fra en seksring til en femring. Metylgruppen blir oksidert til en syregruppe (-COOH) i endoplasmatisk retikulum. Oksidasjonen er katalysert av NADPH avhengig cytokrom P<sub>450</sub> monooksygenase, kalt *ent*-kauren oksidase (KO), samt *ent*-kaurensyre hydroksylase og GA<sub>12</sub> aldehyd syntase. Enzymet *ent*-karuen oksidase kan hemmes av vekstretardantene ancymidon og paclobutrazol, GA<sub>12</sub> aldehyd er forkomponent for alle andre gibberelliner. Fra GA<sub>12</sub> aldehyd til C19 gibberelliner er det to mulige biosynteseveier, en hvor karbon 13 blir hydroksylert og den andre ikke. GA<sub>12</sub>aldehyd oksideres til GA<sub>12</sub> av enzymet monooksygenase i endoplasmatisk retikulum eller av en dioksygenase. Dioksygenase trenger 2-oksoglutarat, oksygen (O<sub>2</sub>), toverdig jern (Fe<sup>2+</sup>) og askorbat som kofaktorer for å virke.

a) Det kan deretter skje en hydroksylering av karbonatom 13 og/eller karbonatom 3 og det dannes GA<sub>53</sub>.

b) Oksidasjon av karbonatom 20 fra metylen til aldehyd (CH<sub>2</sub> → CH<sub>2</sub>OH → CHO (aldehyd)) katalyseres av en GA<sub>20</sub> oksidase og GA<sub>53</sub> går over til GA<sub>19</sub>. Deretter blir karbonatom 20 fjernet som CO<sub>2</sub> og det dannes GA<sub>20</sub>.

GA<sub>20</sub> hydroksyleres og gir aktivt GA<sub>1</sub> katalysert av en 3β-hydroksylase. Deretter skjer det en 2β-hydroksylering som inaktiverer GA<sub>1</sub> og gir GA<sub>8</sub>. GA<sub>20</sub> kan også hydroksyleres til GA<sub>29</sub>.

Gibberelliner kan konjugeres til sukker. GA<sub>1</sub> kan også bli uvirksom ved katabolsk inaktivering, f.eks. 2β-hydroksylering hvor GA<sub>1</sub> omdannes til GA<sub>8</sub> gir inaktivering.

Auxin stimulerer syntese av gibberellin og etylen, og auxin øker transkripsjonen av GA<sub>3</sub> oksidase og represserer transkripsjonen av GA<sub>2</sub> oksygenase. Fytokrom kan gi økt transkripsjon for genet GA<sub>3</sub> oksidase som katalyserer overføringen fra GA<sub>20</sub> til GA<sub>1</sub>.

## Vekstretardanter

Onium-forbindelsene (CCC, AMO-1618) virker ved å hindre ringdannelse av geranylgeranylpyrofosfat til copallylpyrofosfat. Internodiene blir kortere og bladene tykkere og grønnere. Pyrimidiner (ancymidol (A-rest), flurprimidol) virker ved å hemme cytokrom P-450 som kontrollerer oksidasjonen av kaurene til kaurensyre. Biosyntesen av ABA og steroler påvirkes også

Triazoler (paclobutrazol (Bonzi), uniconazol o.a.) reduserer planteveksten ved å hemme mikrosomal oksidasjon av kauren, kaurenol og kaurenal katalysert av kauren oksidase og cytokrom P-450 oksidase. Reduserer også syntesen av ABA, steroler, etylen og IAA. Vekstretardanter brukes i veksthusnæring for å redusere strekning av liljer, chrysanthemum og julestjerne (poinsettia). CCC (stråforkorter) er blitt brukt for å få redusert strekning i kornåkre. Hexadion (BX-112) hemmer GA<sub>3</sub> oksidase, enzymet som omdanner GA<sub>20</sub> til GA<sub>1</sub>.

Morfactiner (fluoren, klorfluorenol) påvirker planteneles morfogenese, vanligvis redusert vekst, men hvor ikke gibberellinsyntesen påvirker. De kan virke som antagonister til gibberellin.

Malein hydrazid blokkerer cellevekst ved å interferere med produksjonen av uracil.

## GA<sub>1</sub> kontrollerer strekning

Gibberellin kan øke celledeling og cellestrekning. Det skjer ikke økt vannopptak og det skjer ikke en forsuring av veggen som ved virkning av auxin. Det ser imidlertid ut til å være en egen cellevegg-løsningsmekanisme som kan skyldes aktivering av enzymet xyloglukan endotransglykosylase/hydrolase som gjør celleveggstrukturen løsere uten forsuring og letter penetreringen av ekspansin i celleveggen.

Genetiske dversorter skyldes en enkelt genmutasjon slik at høyden reduseres pga. kortere internodier. Det er gjort en rekke studier av dvergmutanter av erter, mais, og ris. Hos toårige er det første året rosetteplanter med sterkt forkortede internodier, og når skuddet med blomsteranlegg strekker seg fra rosetten den andre vekstsesongen skjer det en sterk økning i lengdeveksten. Hodekål består av rosetter av blad med meget korte internodier. Mitosene øker i ribbe- og grunnmeristemene i rosetter av langdagsplanter etter behandling med gibberellin. Ekstreme dvergmutanter er ert og *Arabidopsis* har korte røtter og eksternt tilført gibberellin øker lengden av både skudd og røtter. GA<sub>1</sub> og GA<sub>3</sub> gir god respons med økt strekning hos dvergmutanter. GA<sub>20</sub> gir virkning ved at det omdannes til GA<sub>1</sub> ved 3β-hydroksylering. Lys regulerer syntesen av GA<sub>1</sub>. Den grønne revolusjonen på 1960-tallet var basert på foredling av ris og hvete med korte og stive strå. Liten strekningsvekst ga mindre legde og større avling hvis plantene fikk nok gjødsel. Foredlingsarbeidet med ris skjedde ved risforskningsinstituttet IRRI på Filippinene og for hvete ved CIMMYT i Mexico.

Dypvannsrís (*Oryza sativa*) vokser delvis neddykket under vann. Økt celledeling i interkalære meristemer og økt strekning gjør at internodiene blir lenger når vannivået stiger for å holde bladene over vann. GA<sub>4</sub> er viktig for reproduktiv vekst i ris og finnes også i *Arabidopsis* og agurk. Økning i internodielengden kan være opptil 25 cm per dag og dette er styrt av gibberellin. Risrøttene har liten tilgang på oksygen og dette gir økt syntese av etylen. Økt syntese av etylen gjør at konsentrasjonen av abscisinsyre synker. Abscisinsyre er en antagonist til gibberellin og gir derved økt strekning.

En mutant av mais *dwarf-5* er homozygot og gir svært korte planter.

Sukkerrør (*Saccharum officinarum*) er et eksempel på de få plantene som lagrer sukrose istedet for stivelse. Sukkerrør kan bli fra 4-6 m høye og sukrose lagres i vakuolen i parenkymceller i internodiene. Gibberellin gir økt lengde av internodiene og derved mer sukrose.

## Mendels korte og lange erteplanter

Allelene *Le* og *le* er to alleler som regulerer høyden hos erter. De dominante allelet *Le* hos ert gir lange planter og koder for en 3β-hydroksylase som katalyserer overgangene GA<sub>9</sub> → GA<sub>4</sub> og GA<sub>20</sub> → GA<sub>1</sub>. Individuer som er homozygote for det recessive allelet *le* er dverger. Dette ble undersøkt første gang av Mendel, men det er først nå vi kan forklare hva som skjer. De høye plantene lager mer gibberellin GA<sub>1</sub>

enn de lave, som derimot inneholder mye GA<sub>20</sub>. Dvergplantene responderer på tilført GA<sub>1</sub> utenfra og blir da høye. Dvergene responderer derimot ikke på GA<sub>20</sub> som er en umiddelbar forkomponent for GA<sub>1</sub>. Det recessive allelet *le* skyldes mutasjon i *Le* genet, men syntesen av GA<sub>1</sub> er ikke fullstendig blokkert i dvergene (*Na le*). Mutanten *nana* har en blokkering ved ent-kauren oksidase og blir en ultradverg. Høye erteplanter har allelene *Na Le*.

*na* er en recessiv mutant av ertes hvor dannelsen av GA<sub>12</sub> fra *ent*-kauren er blokkert. Planter som er homozygote for *na* lager ikke gibberelin og er derfor ekstremt korte, ultradverger (*na na*). Villtypeallelet er det dominante *Na*. Genet *LH* i ert koder for ent-kauren oksidase, og mutanten *Lh2* har lavere konsentrasjon av GA<sub>1</sub> i stengel og frø og gir dverger med frøabortering.

Det finnes også slanke ultrahøye mutanter (*la cry*) av ertes via to alleler *La* og *Cry*. Eksogent tilført GA<sub>3</sub> gir strekning av stengel hos dvergmутanter fordi noe GA<sub>3</sub> omdannes til GA<sub>1</sub>.

## Gibberellin og spiring av karyopse

Gottlieb Haberlandt oppdaget i 1890 at utskillelsen av stivelsesnedbrytende enzymer i aleuron er avhengig av embryo. Halvkorn av bygg uten embryo bryter ikke ned stivelse. På 1960-tallet ble det oppdaget at gibberellin kan erstatte embryo i nedbrytningen av stivelse. Gibberellin fremmer frøspiring og stimulerer syntesen av hydrolytiske enzymer som deltar i nedbrytning av cellevegger (glukanase) og opplagsnæring i endospermen i karyopser. Stivelse nedbrytes av amylase og protein av proteaser. En karyopse, frø hos kornslagene, består av en stivelsesholdig endosperm omgitt av et levende aleuronlag, hvor frøskall (testa) og fruktveggen (perikarp) er sammenvokst. Gibberellin aktiverer veksten i embryo, og gjør endospermen svakere rundt embryo. I aleuronlaget i korn finnes proteinlegemer, fytin og oleosomer. Aleuronlaget med levende celler med tykke primærvegger ligger rundt de døde endospermcellene med opplagsnæring. Stivelse kan spaltes til oligosakkarider inne i molekylet av enzymet  $\alpha$ -amylase. Enzymet  $\beta$ -amylase kapper av oligosakkarider fra enden av stivelse og får derved flere ender å arbeide med. Det kappes av disakkaridet maltose som kan spaltes til glukose katalysert av maltase.  $\beta$ -amylase er tilstede i uspirte korn, mens  $\alpha$ -amylase lages ved spiringen. Gibberellin øker transkripsjonen og økt utskillelse av enzymene  $\beta$ -1,3-glukanase, hydrolase, og ribonuklease fra aleuronlag og skutellum. I tillegg øker gibberellin transkripsjonen av  $\alpha$ -amylase mRNA, hvor transkripsjonsfaktoren GAMYB deltar, og  $\alpha$ -amylase hører med til en multigenfamilie. GA-responselement (GARE) er en oppstrøms regulatorsekvens som binder GAMYB. Etter hvert skjer det programmert celledød av aleuroncellene. Opplagsnæringen suges opp via skutellum.

Aleuron har to typer gibberellin-reseptorer, Ca<sup>2+</sup>-avhengige og Ca<sup>2+</sup>-uavhengige, GID1 og reseptorer på plasmamembranen.

## Gibberellin - fotoperiode og temperatur

Gibberellin deltar når knopper og frø går ut av hvile. Økt mengde gibberellin i

planten er en del av oppvåkningen. Fotoperiode og temperatur endrer konsentrasjonen av gibberellin ved å regulere transkripsjonen. Gibberelliner kan erstatte kuldekrav hos toårige rosettplanter og kravet til lang dag for å blomstre. Ofte kan behandling av plantene med gibberellin gi raskere blomstring, og behandling med gibberellin kan gi blomstring ved kort dag hos langdagsplanter. Når planter som trenger lang dag flyttes fra kort dag til lang dag påvirker metabolismen av gibberellin. Lang dag øker uttrykket av  $GA_{20}$  oksidase som katalyserer overgangen fra  $GA_{53}$  til  $GA_{20}$  og innholdet av både  $GA_{20}$  og  $GA_1$  øker ved lang dag, med økt oksidasjon av  $GA_{53}$  og  $GA_{19}$ . Hvis spinat som vokser ved kort dag blir overført til lang dag gir dette økt endogen biosyntese av gibberellin som resulterer i strekning og blomstring. Arabidopsis er en fakultativ langdagsplante som gir blomstring forskjellig fra gibberellinavhengig vei som kan gi blomstring ved kort dag.

Fotoperioden kontrollerer knolldannelse hos potet. Villpotet danner knoller bare ved kort dag, og knolldannelsen kan bli blokkert av gibberellin.  $GA_5$  og  $GA_6$  induserer blomstring i *Lolium temulentum* som krever bare lang fotoperiode for å indusere blomstring.

Lav temperatur som er en forutsetning for frøspiring hos mange planter kalles **stratifisering**. Lav temperatur som induserer blomstring kalles **vernalisering**. Gibberellin kan erstatte kuldebehandling på planter som trenger dette for stengelstrekning og blomstring. Hvis plantene ikke kuldebehandles øker innholdet av *ent*-kauren i skuddspissen. Etter kuldebehandling hvor plantene kommer tilbake til høy temperatur overføres *ent*-kauren til  $GA_9$ . Det er kjent at  $GA_9$  er aktiv ifm. blomstring. Det skjer en kuldeindusert økning i *ent*-kaurensyre 7 $\beta$ -hydroksylase i skuddspissen. Uten lav temperatur akkumulerer *ent*-kauren i skuddspissen, og etter kuldebehandling blir *ent*-kauren omdannet til  $GA_9$ .

## Andre effekter av gibberellin

Gibberellin kan hos noen planter påvirke overgangen fra ungdomsfase (juvenilt stadium) til voksen fase. Bergflette (*Hedera helix*) har forskjellige bladform i ung og gammel fase. Jjuvenilt stadium har lappete blad og adult stadium har helrandete hele blad. Gibberelliner regulerer begge veier, og det kan skje en overgang fra adult til juvenil med behandling med gibberellin.

Et juvenilt bartre kan omdannes til reproduktiv fase med behandling med  $GA_4 + GA_7$ .

Gibberelliner kan påvirke initieringen av blomstring og blomsterkjønn hos enkjønnete blomster, ved abortering av enten hannlige eller hunnlige primordier. Maisplanter som får korte dager og kalde netter får økt innhold av gibberellin i kolben og gibberellin undertrykker dannelsen av hannblomster. Gibberellin kan indusere dannelsen av hannblomster i agurker. Dette kan ha betydning ved formering av F1-hybrider av agurk som vanligvis bare lager hunnblomster. Gibberellin fremmer fruktsetting hos eple (*Malus sylvestris*), og gir økt fruktvekst etter pollinering av pære. Gibberellin gir økt lengde på stilken av frøløse Thompson-druer. Benzyladenin sammen med  $GA_4+GA_7$  gir lengre Delicious-eple. Gibberellin brukes for å produsere malt fra

spirende bygg i ølindustrien.

## Pollenutvikling

Pollen får næring fra tapetlaget i pollensekkene. Pollenutvikling og hannfertilitet kan styres via GAMYB. MYB er vanlige transkripsjonsfaktorer hos eukaryoter. Tapetceller med utvekster kalt Ubish-legemer (orbikuler) frigir sporopollenin (polymer av fenypropanoider og fettsyrerester) og lager den ytre delen av pollenkorntet. Tapetlaget gjennomgår programmert kontrollert celledød, men dette skjer ikke i mutanten *gamyb*. Mutanten *gamyb* i ris lager ikke pollen, hvor pollenkorntet kollapse. Gibberellin oppregulerer to gener i lipidmetabolismen som er nødvendig for dannelse av pollenveggen. Hos ris er mutanter som mangler gibberellin hannsterile. **Mikro-RNA** bestående av 20-25 nukleotider kodet fra gener regulerer gener etter transkripsjonen. Mikro-RNA bindes til ribonuklease og mRNA som hybridiserer med mikro-RNA blir degradert av ribonuklease. Tre mikro-RNA er komplementære til GAMYB-lignende gener.

## Gibberellin og molekylærbiologi

Gibberellinreseptoren på plasmamembranen i aleuronceller er et heterotrimert G-protein. GA responselement (GARE) ligger 200-300 bp oppstrøms for transkripsjonsstart, og gibberellinindusert GA-MYB transkripsjonsfaktor regulerer ekspresjon av  $\alpha$ -amylase.

Genet *GAMYB* er et primærresponsgen aktivert av gibberellin. I planter er det en stor gruppe R2R3-MYB faktorer (120 stykker i Arabidopsis) som regulerer primære og sekundære biosynteseveier. Det er samme signalvei for stengelvekst og syntese av  $\alpha$ -amylase, hvor  $Ca^{2+}$ , cGMP og protein kinase deltar i signalveien. *GAMYB* transkripsjonsfaktor deltar ved induksjon av blomstring, utvikling av blomster og hannfertilitet. MikroRNA regulerer MYB etter transkripsjonen.

Dvergmutantene *ga1*, *ga2* og *ga3* i Arabidopsis har pleiotrope effekter med dormante frø som ikke spirer uten tilførsel av gibberellin. Dvergmutantene har hannsterile og viser at gibberellin er nødvendig i utvikling av pollenblad og pollen. Mutantene *ga1* (ent-copalylidifosfat syntase), *ga2* (ent-kauren syntase) og *ga3* (ent-kauren oksidase) er ekstreme dverger. Genet *GA4* koder for  $GA_3$ -oksidase. *SLENDER* (*SLN*) i bygg koder for  $GA_2$  oksidase og er høyere enn villtypen. Arabidopsismutanten *spindly* (*spy*) har vist at genet koder for et protein som ligner glukosamin transferase i dyr.

GRAS-familien av transkripsjonsfaktorer består av *GIBBERELLIN-INSENSITIVE* (*GAI*), *REPRESSOR OF ga1* (*RGA*), og *SCARECROW* (*SCR*) hvor alle har N-terminal ende med DELLA-domene. Binding av gibberellin til *GID1* reseptor gir ubiquitinerer av DELLA-repressorprotein. DELLA har fått navn fra 5 aminosyrer: asparaginsyre (D), glutaminsyre (E), leucin (L), leucin (L), alanin (A). Proteiner med DELLA-domene er viktige negative regulatorer for gibberellin respons. Lys hemmer hypokotylestreking via DELLA, mens gibberellin aktiverer. Det er kjent fem DELLA-gener i Arabidopsis *ga1*, *GAI*, *RGL1-3*. *GID1* er en løselig allosterisk GA-reseptor.

GA-GID1 reseptoren gir ubiquitinerings av DELLA via E3-ligasen SCF<sup>S<sub>LY</sub>1</sup>, med F-boks SLY1. Degradering av DELLA aktiverer transkripsjonsfaktorene PIF3 og PIF4. mutanten *gid1* er en gibberellinufølsom dverg. Gibberellin kan regulere transkripsjonen av kinaser i cellyklus, og virker i overgangen G1-S. Den grønne revolusjonen med korte planter med ris og hvete som tåler mye gjødsel uten å gi legde baserer seg på redusert høyde mutasjoner (*Rht-B1b*, *D1b*) som involverer DELLA-domene. Redusert mengde GA<sub>1</sub> hos korn gir redusert legde, og det er laget genmodifiserte planter med overuttrykk av GA2-oksidasen. Oversvømmelsetolerante kultivarer kan tilpasses rask flom, e.g. Sub1A-1 som virker via DELLA. Generelt vil nedbrytning av DELLA påvirkes av lys, temperatur, etylen, og ABA, og viser kryssregulering av signalveier.

## Cytokininer

### Historien om cytokinin

Østerrikeren Gottlieb Haberlandt oppdaget i 1913 et ukjent vannløselig stoff fra ledningsvevet i planter som kunne stimulere celledeling i såret potetvev. Naturlig kallus dannes ved såring eller poding. I 1934 kunne Philip White vise at tomatrøtter kunne vokse i et enkelt næringsmedium med salter, sukrose, og vitaminer, men uten tilsatt hormoner. Et slikt medium uten hormon gir ikke vekst av stengler, som indikerer at det er et stoff i røttene som trengs for vekst av stengler. van Overbeek og medarbeidere viste i 1944 at kokosnøttmelk (flytende endosperm) tilsatt et næringsmedium kunne gi celledeling i unge embryoer fra piggeple (*Datura*). Folke Skoog og medarbeidere ved Universitetet i Wisconsin testet stoffer som hadde effekt på celledeling. Jablonski og Skoog viste i 1954 at vaskulære cellevev inneholdt et stoff som stimulerte celledeling i margvev fra tobakksplanter. De fant at adenin hadde litt effekt på celledelingen, men i 1955 isolerte de et stoff fra gammel autoklavert sildemelke som de kalte kinetin. Det ble kalt kinetin fordi det kunne gi cytokinese dvs. celledeling i tobakksmargvev. Dette stoffet kunne få planteceller av tobakk til å dele seg dyrket i kulturkar med sterilt næringsmedium. Stoffet ble identifisert av Carlos Miller og medarbeidere i USA som 6-furfurylaminopurin. Kinetin kunne lages ved å autoklavere adenin og furfurylalkohol, eller sildemelke. Varmebehandlingen omdanner doksyribose i adenosin til en furfuryl-ring. I 1961 viste Miller at et kinetinlignende stoff fantes i endospermen mais. Først i 1963 ble et naturlig forekommende cytokinin, et aminopurin kalt **zeatin**, isolert fra umodne maiskorn.

### Generelt om cytokininer

Cytokininer er substituerte adeninforbindelser som gir celledeling og vekstregulerende effekter. Cytokininer finnes i alle høyere planter, moser, sopp, og bakterier. t-RNA inneholder 4 nukleotider hvorav noen er modifisert og kan virke som cytokinin.

Det er kjent mer enn 200 naturlig forekommende og syntetiske cytokininer. Patogene



bakterier, insekter og rotknutenematoder kan lage cytokinin.

Innholdet av cytokininer er størst i meristematiske områder i ungt plantevev og områder med stort vekstpotensial i røtter, unge blad, frukt som utvikler seg og i frø. Cytokininer produseres i apikale meristemer, og cytokinin fra røttene transporteres som zeatinribosid opp i skuddet via ledningsvevet. Transport av zeatinribosid fra rot til skudd er regulert av signal fra skuddet. I frukt og frø lages cytokininer sannsynligvis på stedet. Frø i hvile har mye cytokinin-glykosid, men lite fritt cytokinin.

Cytokininer deltar i:

- 1) celledeling
- 2) organdannelse
- 3) økning i celle- og organstørrelse
- 4) næringsmobilisering, forsinkelse av klorofyllnedbrytning og forsinket aldring
- 5) Lysregulert utvikling (kloroplastddifferensiering, utvidelse av frøblad) Cytokinin gir utvidelse av celler i frøblad hos sennep, redikk, agurk og solsikke, men ikke økt tørrvekt. Auxin og gibberellin gir ikke økt ekspansjon av frøblad, og det er mer ekspansjon i lys enn i mørke.
- 6) knopp- og skuddutvikling, blomsterutvikling
- 7) apikal dominans
- 8) frøspiring og brudd av knoppshvile
- 9) deltar i dannelse av vaskulært vev, og cytokinin er nødvendig for dannelse av vaskulært kambium

## Biosyntese av cytokinin

Zeatin fra mais er et adenin- eller aminopurinderivat med en sidekjede på N<sub>6</sub>-nitrogen. Zeatin inneholder en karbon dobbeltbinding og kan finnes i *cis*- eller *trans*-konfigurasjon, men naturlig zeatin er *trans*-konfigurasjon, og er den mest aktive, selv om begge isomerene virker som aktive cytokininer, og det finnes zeatin isomerase som katalyserer overgangen mellom dem. Zeatin er vanligst i planter, men også dihydrozeatin, isopentenyladenin og noen modifiserte t-RNA virker som cytokinin. Cytokininene kan finnes kompleksbundet som ribosider med ribose festet til N<sub>9</sub>-nitrogen i purin ringen, som ribotider med ribose forestret til fosforsyre. O-glukosider lages av O-glukosyltransferase. Noen kan også lage N-glukosider, men disse er ikke biologisk aktive.

Sidekjeden til cytokininer er et isoprenederivat. Cytokininene har det til felles med gummi, karotenoider, gibberelliner, abscisinsyre og fytoaleksiner at de er laget fra isopentenylpyrofosfat fra mevalonsyre. Cytokinin syntase (isopentenyl-pyrofosfat-AMP transferase, IPT) er en prenyltransferase som ligner dem som inngår i syntesen av isoprenoider. Enzymet katalyserer overføringen av isopentenyl-sidekjeden fra dimetylallyldifosfat (DMAPP) til adenosin i ADP eller ATP og produktet er et ribotid, isopentenyladeninribotid, som kan omdannes til *trans*-zeatin-ribosid og deretter fri base (*trans*-zeatin). DMAPP kommer fra MEP-veien (MEP=metylerythritolfosfat). Denne synteseveien finnes i plastider hvor det meste av enzymet IPT befinner seg,



og som katalyserer det første trinnet i syntesen av cytokinin. Planter og bakterier bruker forskjellig adenosinsubstrat. *Agrobacterium* IPT bruker AMP som kobles til HMBDP, i stedet for ADP eller ATP som plantene bruker koblet til DMAPP.

Av de syntetiske cytokininene er kinetin (6- furfurylaminopurin) og 6-benzylaminopurin (et N<sup>6</sup>-substituert aminopurin) mest brukt, men N-N'-difeny lurea og thidiazuron virker også.

Fritt cytokinin omdannes via enzymer fra purinmetabolismen. Cytokinin oksidase kløyver sidekjeden fra zeatin. Dihydrozeatin brytes ikke ned av cytokinin oksidase.

Ris (*Oryza sativa*) finnes i hovedvarietetene *japonica* og *indica* hvor *indica* gir mange flere korn per aks enn *japonica* og derved større avling. Studier av kvantitative egenskapsloci (QTL) viser at redusert mengde cytokinin oksidase i *indica* gir høyere konsentrasjon av cytokin i blomsterstanden slik at blomsterstandmeristemet derved gir flere reproduktive organer og frø.

## Celledeling og dannelse av skudd

Cytokininer deltar i celledeling i primære- og sekundære meristem (kambier). Cytokinin stimulerer celledeling ved optimal konsentrasjon av auxin. Cytokinin og auxin påvirker celledelingen ved å kontrollere cyklinavhengige protein kinaser. Cytokinin stimulerer uttrykk av et G<sub>1</sub> cyklin δ 3. Konsentrasjonen av cytokinin er maksimal ved slutten av S-fase, i overgang G<sub>2</sub>/M og sein G<sub>1</sub>. Skades en plantedel vil det på sårstedet produseres cytokinin som stimulerer celledeling og sårheling (såringsseffekt).

Et bioassay hvor kunstig tilført cytokinin gir økt cellestørrelse i frøblad hos reddik og lin, skyldes økt vannopptak i cellene.

Forholdet mellom cytokinin og auxin er avgjørende om en plantedel skal lage røtter eller skudd. Mye auxin i forhold til cytokinin gir røtter, og høyt cytokinin/auxin forhold gir skudd. Er det mye av begge dannes kallus. Cytokinin motvirker auxinindusert apikal dominans. Bakterier, sopp, insekter og rotknutenematoder inneholder eller bidrar til å lage cytokinin

Bakterien *Agrobacterium tumefaciens* som gir krongalle får via det tumorinduserende plasmid Ti-DNA med T-DNA innsatt i plantens genom til å lage cytokinin og auxin og virker som fytoonkogen. Genet *ipt* (*tmr*-locus) i syntesen av cytokinin lager isopentenyltransferase. Genene *iaaH* og *iaaM* lager enzymer som lager auxin, og det er gener som lager opiner via oktopin syntase. Opiner er aminosyrer som bakteriene bruker som energi- og N-kilde. *Agrobacterium rhizogenes* lager ekstrem rotdannelse. *Rhodococcus fascians* og *Corynebacterium fascians* kan lage heksekoster. Soppen *Taphrina betulina* som gir heksekoster på bjerk gjør dette sannsynligvis via cytokininer. En heksekost er en forkrøpelt massiv mengde skudd med korte internodier forårsaket av at sideknopper som vanligvis er i hvile vokser ut. *Melampsorella caryophyllacearum* gir heksekoster på edelgran (*Abies*).

Cytokinin hemmer rotvekst ved å redusere celledeling og celledørrelse i det rotapikale meristemet. Cytokinin og auxin er antagonister i røtter. Lite næring gir lav konsentrasjon av cytokinin og derav økt rotvekst. Høy konsentrasjon av næring gir høy konsentrasjon av cytokinin og påfølgende økt skuddvekst og mindre rotvekst.

## Cytokininer og aldring

Blad som fjernes fra en plante taper klorofyll, lipider, RNA og protein og gjennomgår en programmert aldringsprosess, og som skjer raskere i mørke enn i lys. Stopper rotveksten på en plante fremskyndes aldring av skuddet. Cytokinin produseres i rotspissene og fraktes opp i skuddet ved langdistansetransport. Fjernes røttene på en plante kan kunstig tilført cytokinin delvis erstatte behovet for røtter og derved forsinke aldring av skuddet. Nye adventivrøtter ved snittflaten vil produsere cytokinin som stopper og forsinke aldringsprosessen i skuddet. Voksne blad lager lite cytokinin sammenlignet med unge og er avhengig av cytokinin fra røttene. Cytokinin stimulerer transport av næringsstoffer til blad fra andre deler av planten. Tilføres nitrogen til maisplanter som har nitrogenmangel, gir dette en rask økning av cytokinin i røttene som fraktes til skuddet via xylem. Konsentrasjonen av cytokinin påvirker mengden fosfat, og cytokinin påvirker uttrykk av fosfat- og svovel-følsomme gener. Aldring av planten som bare setter frø og frukt en gang starter ved frømodningen. Aldring hos monokarpe arter kan forsinkes ved å fjerne visne blomster eller frø. En belg kan kontrollere mengden cytokinin til skuddet.

Cytokininer aktiverer næringsmobilisering, stimulerer syntese av RNA og protein, inducerer syntese av enzymer bl.a. nitrat reduktase og forsinke proteindegradering. Cytokinin beskytter dessuten membraner mot degradering. Smøres cytokinin på et blad om høsten vil det holde seg grønt lenger. Når noen typer sopp infiserer blader kan det være "grønne øyer" med klorofyll rundt soppen hvor aldringen er forsinket og transportbaner opprettholdes. Da er det sannsynlig at soppen skiller ut cytokininer som lager disse grønne områder, hvor klorofyll lenger unna soppen er nedbrutt. Ved bladaldring kan man se at vevet rundt ledningsstrengene holder seg grønt lenger enn resten av bladet slik at transportfunksjonene i bladet opprettholdes lengst mulig, en cytokinin-indusert næringsmobilisering som frakter næring til områder med høy konsentrasjon av cytokinin. Kunstig tilført cytokinin forsinke aldring av snittblomster.

Grad av lukking av spalteåpningene påvirker aldring. Er spalteåpningene lukket gir dette raskere aldring. Plantehormonet abscisinsyre gir lukking av spalteåpningene. Et bjerketre som utsettes for kraftig tørke feller en større mengde blader før tiden for å redusere vanntapet. Dette kan skyldes økt aldring via abscisinsyre, men også ved at rotveksten stopper og mindre cytokinin fraktes opp i treet. Kronblad har ofte få spalteåpninger og dette kan øke aldringsprosessen. Cytokinin kan gi åpning av spalteåpninger, fremmer kloroplastutvikling og kan gi thylakoider i kloroplaster i mørke.

## Cytokinin og apikal dominans

Planteform blir bestemt av apikal dominans. Geitrams og kanadagrullris er eksempler

på planter med sterk apikal dominans. Hos andre planter påvirkes greiningsmønsteret av lys, næring og genotype. Greining kan bli aktivert ved avkapping av toppskudd. Det er et samvirke mellom auxin fra skuddet og cytokinin fra røttene ifm apikal dominans. Fjernes skuddspissen øker IPT og cytokrom oksidase synker, deretter starter sideskuddet å lage auxin. Strigolakton fra rota virker som supressor for akselknoppvekst. Genmodifiserte planter som overproduserer cytokinin er mer busket og greinet. Mer ekstrem overproduksjon av cytokinin gir forkrøplet vekst, korte internodier, rotveksten reduseres og det dannes færre røtter fra stiklinger.

## Cytokinin og fytokrom

Etiolerte planter har lange hypokotyle eller internodier, frøblad og blad utvikles lite, det er lite røtter og plastider er i form av etioplaser. Behandling av mørkespirte planter med cytokinin gir kloroplaster med grana i mrøke. Det er en sammenheng mellom cytokinin og fytokrom. Lavt forhold mellom rødt/mørkerødt lys, det vil si mye mørkerødt i forhold til rødt gir økt aktivitet av cytokrom oksidase. Cytokinin øker forekomsten av HY5-protein ved å øke proteinstabilitet. A-type ARR4 stabiliserer den aktive formen av fytokrom ved å redusere mørkereverseringen.

## Knoppdannelse hos moser

Cytokininer gir knoppdannelse i mose (*Funaria hygrometrica*). En mosespore utvikler en spiretråd og danner protonema. Protonema blir lengre og celledelingen skjer i spisser og greiner. Det er to stadier:

- 1) kloronema med kloroplaster.
- 2) kaulonema som kryper langs bakken. Knopper dannes fra kaulonema. Utvekster (protuberanser) dannet ved assymetrisk celledling gir initialceller som gir knopper. For å få knoppdannelse er rødt lys eller cytokinin nødvendig.

## Cytokinin og molekylærbiologi

Cytokinin og auxin påvirker cellyklus via cyklinavhengig protein kinase (CDK) i samvirke med reguleringsenheter (cykliner). CDK (cdc2 cell division cycle 2) reguleres av auxin. Cytokinin aktiverer cdc25-lignende fosfatase som fjerner fosfat fra Cdc2. Cytokinin aktiverer genet *CYCD3* som koder for D-type cyklin som regulerer overgangen fra G2 til M (mitose). Hos dyr blir D-type syklin regulert av flere vekstfaktorer.

Cytokinin gir økning i uttrykk av type A responsregulatorgener via aktivering av type *ARR* gener (Arabidopsis respons regulator gen). Cytokininreseptorer CKI1 (cytokinin independent growth), CRE1, AHK2, AHK3 (Arabidopsis histidin kinase), ligner bakterielle tokomponent histidin kinase, sensorprotein som deltar i kjemotaksis og osmoregulering. Det er membranbundet protein som inneholder en sensor histidin kinase som kan binde et signal, og virker sammen med Arabidopsis responsregulatorprotein (ARR), kodes av multigenfamilie A-ARR og B-AAR. Sensorprotein har to domener, et mottaksdomene som mottar signal fra omgivelsene

og et overførings- eller transmitter-domene som overfører signalet til responsregulator. Responsregulatorprotein har også to domener, et mottaksdomene og et DNA-bindende transmitter-domene som overføres til et mottaksdomene ved protein fosforylering. Transmitter-domene kan fosforylere seg selv ved autofosforylering. Fosforylert histidin i histidinfosfotransfer protein (Hpt) overfører fosfat til aspartat, og AHP (Arabidopsis histidin phosphotrasfer) overfører signalet til responsregulatorprotein (ARR) i kjernen, dette gir konformasjonsendring og deretter aktivering av genekspresjon. Cytokinin bindes til ekstracellulær del av CRE1 kalt CHASE-domene. Hybrid sensor kinaser (AKH2 og AKH3) er også reseptorer. Histidin kinase aktiveres. Fosforylering gjør at AHP (Arabidopsis histidin fosfotransferase) går inn i kjernen. Cytokinin påvirker uttrykk av mange gener via økt transkripsjon av A-ARR eller ved å stabilisere RNA transkript: nitrat reduktase, SSU i rubisko, LHCB, patogenerelatert protein PR1, ekstensin, rRNA, peroksidase, cytokrom P<sub>450</sub>. B-ARR har DNA-bindende domene og aktiverer transkripsjon oppstrøms for A-ARR

Transport-DNA (T-DNA) fra det tumorinduserende plasmidet (Ti-plasmid) hos *Agrobacterium tumefaciens* inneholder fytoonkogener for syntese av cytokinin (*trans*-zeatin) (*cyt*) og auxin (*aux*), samt opiner som blir plassert inn i plantens DNA. 42°C kan drepe bakterien, men krongalleceller kan fortsette å vokse og danne udiffensierte celler i et næringsmedium uten tilsatt auxin og cytokinin. Genet *aux* koder for enzym som omdanner tryptofan til IAA med indolacetamid som intermediat. *ipt*-genet hos *Agrobacterium tumefaciens* som koder for enzymet cytokinin syntase (isopentenyl transferase) er satt inn i mange planter og resultatet er massiv skuddvekst.

Genet *ipt* er også blitt kalt *tmr* fordi inaktivering av *ipt* gjør at det dannes rottumorer. Forholdet mellom cytokinin og auxin avgjør om det skal dannes skudd eller røtter.

Cytokinin regulerer positivt homeoboks transkripsjonsfaktoren KNOX (KNOTTED-lignende). KNOX regulerer også nivået av cytokinin ved å indusere transkripsjon av *IPT* i en positiv tilbakekoblingsløkke. Gibberellin regulerer også det apikale meristemet i skuddet (SAM). KNOX nedregulerer uttrykket for enzymet GA<sub>20</sub> oksidase og gir et høyt cytokinin/gibberellin ratio i SAM. Det er en kobling mellom cytokinin og homeodomeneprotein WUSCHEL (WUS). WUS uttrykkes i organiseringssenteret i SAM og bestemmer utviklingen av celler som ligger over senteret.

## Abscisinsyre (ABA)

### Historien om abscisinsyre

I lang tid mente man at knoppvile og frøhvile skyldtes hemmende stoffer. Liu og Carns i 1961 isolerte et stoff fra modne bomullsfrukter som stimulerte felling (avkastning, abscission) av bomullsbladstilker. De kalte stoffet abscisin I. Seinere ble

stoffet isolert som en 15-karbonforbindelse kalt abscisin II. Omtrent samtidig isolerte Warings gruppe i England en veksthemmende substans fra bjerkeblad eksponert for korte dager. Stoffet hemmet vekst av den apikale knoppen på frøplanter av lønn (sycamore). De antok at det var et dvaleinduserende stoff og kalte det dormin. Etterhvert ble man enige om å kalle stoffet abscisinsyre. Abscisin II er det samme som dormin og abscisinsyre (ABA= abscisic acid).

## Generelt om abscisinsyre

Abscisinsyre (ABA) har lite med bladavkasting å gjøre og har derved et noe misvisende navn. ABA gir avkastning av bomullsfrukt ved å stimulere etylensyntese. Generelt fremmer ABA aldri uavhengig av etylen. ABA aksellerer aldri i avkuttete bladsegmenter. ABA stimulerer aldri, men ikke absisjon (avkastning). ABA ble opprinnelig funnet i blad av bjerk og lønn og i bomullsfrø. ABA finnes i hvilende knopper og frø, og deltar frømodning, frøhvile og i lukkingen av spalteåpningene ved vannmangel. Konsentrasjonen av ABA øker i hvilende knopper dekket av knoppkjell selv om konsentrasjonen av ABA ikke er korrelert med hvile.

Mange andre veksthemmende stoffer er kjent fra planteriket. Mange av disse finnes i frø. Noen beskytter frø som blir liggende flere år i jorda før de får anledning til å spire. Andre hindrer frøene å spire med en gang de er modne. ABA lages under forskjellige typer stress forårsaket av kulde, salt (saltstress), og vannmangel (tørkestress). ABA fraktes i floem (silvev), men også i xylem (vedvev). Konsentrasjonen av ABA i xylem er vanligvis 1-15 nanomolar (nM), men kan under tørkestress stige til 3000 nM=3 µM. Sistnevnte konsentrasjon i apoplast gir lukking av stomata. ABA lukker spalteåpninger ved å regulere ionekanaler og H<sup>+</sup>ATPase i plasmamembranen. Det skjer først en induert transient depolarisering av membranen ved innfluks av H<sup>+</sup>. Deretter skjer den en økning av kalsiumkonsentrasjonen i cytosol, hvor konsentrasjonen vanligvis er fra 50-350 nM, men stiger raskt til 1 µM. ABA åpner sakte S-type kalsiumaktiverede anionkanaler, men aktiverer også raske R-type anionkanaler som gjør at klorid (Cl<sup>-</sup>) og malat (malat<sup>2-</sup>) går ut av lukkecellene. Dette bidrar til depolarisering av membranen og aktivering av spenningsregulerte K<sup>+</sup>-efflukskanaler. ABA hemmer lysindusert stomataåpning. Blad med forskjellig form over og under vann kan skyldes ABA. ABA hemmer celledreking i skuddvev, induserer lukking av stomata, fremmer avkastning av blad og frukt og øker eller induserer og opprettholder hvile i frø og knopper. ABA øker veksten av røtter og hemmer veksten av skuddet ved lave vannpotensialer. ABA kan fremme bladaldring uavhengig av etylen. ABA hemmer dessuten DNA syntese, aktiverer ribonukleaser, og øker membranpermeabilitet. ABA er antagonist til auxin, cytokinin, gibberellin, etylen og brassinosteroider.

Som bioassay for ABA brukes hemning av gibberellinindusert syntese av enzymet α-amylase i korn, og hemmet vekst av koleoptiler. ABA kan påvises med GC, HPLC eller immunoassay.

ABA fraktes lett rundt i planten i silvev (floem) og vedvev (xylem). ABA kan fraktes fra rota til skuddet. ABA regulerer genekspressjon via transkripsjonsfaktorer. ABA regulerer mange gener ved frømodning og stress inkluderer proteaser, chaperoner, ione- og vannkanalproteiner, reguleringsproteiner og enzymer som avgifter reaktive

oksygenforbindelser.

## Biosyntese av abscisinsyre

ABA lages i alle celler med kloroplaster eller amyloplaster. Abscisinsyre er et sesquiterpenoid, bestående av 15 karbonatomer i en alifatisk ring med en dobbelbinding, 3 metylgrupper og en umettet sidekjede. Naturlig forekommende abscisinsyre (ABA) er en *cis*-isomer ved karbonatom 2 i sidekjeden. Syregruppen (-COOH) på karbonatom C2 avgjør om det er *cis* eller *trans*. ABA har et asymmetrisk karbon i 1'-posisjon på ringen som gir mulighet for S(+) og R(-) enantiomere. Det er S(+)-enantiomeren som er naturlig forekommende. Syntetisk laget ABA inneholder både S og R-form. ABA lages fra karotenoidintermediater ( xanthofyll) i kloroplaster og plastider via mevalonsyresynteseveien. Isopentenylidifosfat (IPP) omdannes til xanthofyllet violoxanthin med 40 karbonatomer. Violoxanthin blir laget av enzymet zeaxanthin epoksidase (ZEP) kodet av *AB1*-locus i Arabidopsis. Genet *ZEP* blir indusert i frø og tørkestressete røtter. Violoxanthin omdannes til 9'-*cis*-neoxanthin som deles og gir xanthoxal (xanthoxin) katalysert av 9-*cis*-epoksykarotenoid dioksygenase (NKED). NKED kløyver både 9-*cis*-violaxanthin og 9-*cis*-neoxanthin. NKED finnes i thylakoidene og kan bli indusert i alt vev ved vannstress.

Xanthoxal, nå i cytoplasma, omdannes til ABA-aldehyd katalysert av en kortkjedet dehydrogenase/reduktase-lik enzym (SDR) kodet av *ABA2*-locus i Arabidopsis. SDR blir indusert av sukker, men ikke av dehydrering.

ABA-aldehyd omdannes til ABA katalysert av ABA-aldehyd oksidase (AAO). AAO trenger molybden kofaktor. Tomatmutantene *flacca* (*flc*), *aba3* og sitiens (*sit*) er visnemutanter som ikke kan lukke spalteåpningene og ligner *aba*-mutanter i Arabidopsis. Mutantene *flacca*, samt *aba3* i Arabidopsis mangler molybden kofaktor.

ABA finnes i hele planteriket, moser (untatt levermoser), grønnalger, og sopp, men har ikke blitt funnet i bakterier. Det er mulig at lunarsyre har funksjonen til ABA i levermoser. Den plantepatogene soppen *Cercospora rosicola* inneholder mye ABA som den lager fra farnesylpyrofosfat. ABA lages via mevalonatveien enten fra C15 farnesylpyrofosfat eller fra spalting av C40 karotenoid (violaxanthin). Violaxanthin omdannes til 9'-*cis*-neoxanthin og videre til xanthoxin. Til slutt dannes ABA via intermedietet ABA-aldehyd.

Konsentrasjonen av ABA i cellevevet varierer mye og bestemmes av biosyntese, katabolisme, kompartmentisering, transport og konjugering. ABA kan konjugeres til monosakkarider som f.eks. ABA- $\beta$ -D-glukosylester som akkumuleres i vakuolen, mens ABA finnes i cytosol.

Under frøutviklingen kan det skje 100 gangers endring i konsentrasjonen av ABA i løpet av noen dager, og i blad med vannstress skjer det 50 gangers endring i konsentrasjonen i løpet av få timer.

ABA kan oksideres til 6-hydroksymetyl-ABA som omdannes videre til phaseinsyre og dihydrophaseinsyre. Phaseinsyre kan gi ABA-virkning.



## ABA og tørkestress

ABA deltar i åpning og lukking av stomata, fungerer som tørkestresssignal og induserer forsvar mot saltstress og kuldestress. Lite vann og lite nitrogen leder til økt syntese og eksport av abscisinsyre fra røttene til skuddet. Generelt vil ABA fremme rotvekst og hemme skuddvekst ved lavt vannpotensial i plantevevet. I skuddet kan abscisinsyre påvirke cellemembraner og gi lukking av spalteåpningene. Tilførselen av abscisinsyre stopper skuddveksten, men ikke rotveksten (tørkerhizogenese). Høy konsentrasjon av ABA har en positiv effekt på rotveksten ved å hemme produksjonen av etylen. Nitrogenmangel gir økt rotvekst og dette kan delvis forklares som en effekt av abscisinsyre. Redusert rotvekst for planter med en liten potte resulterer i redusert skuddvekst, ikke bare på grunn av mangel på vann og næringssalter, men fordi at det sendes et stressignal til skuddet. Ved nitrogenmangel synker innholdet av gibberellin, mens mengden abscisinsyre øker. Unge ekspanderende blad trekker sterkt på fotosynteseproduktene. Kunstig tilføring av abscisinsyre reduserer bladexpansjonen og øker eksporten av fotosynteseprodukter fra bladet. Abscisinsyre virker således ved å skifte fra import til eksport av fotosynteseprodukter fra et blad. ABA-indusert aldring skjer uavhengig av etylen, og ABA aksellerer aldring i bladsegmenter. ABA øker ionefluksen og den hydrauliske konduktiviteten i røtter. Det vil si at effekten av ABA skjer ikke bare via spalteåpningene.

Tørkestress kan gi opptil 50 x økning i konsentrasjonen av ABA i cytosol. I seinere stadier av tørkestress stiger pH i xylemet fra ca. 6.3 til 7.2 og dette gir en dissosiert form av ABA,  $\text{ABA}^-$ , som lettere kommer via apoplasten fram til lukkecellene, men dehydrering gjør cytosol mer sur. Dissosiert  $\text{ABA}^-$  er en svak syre og kan ikke krysse plasmamembranen. ABA kommer inn i celler i protonisert form. Tørkestressindusert alkalisering av apoplast favoriserer  $\text{ABA}^-$  som ikke kan krysse membranen og mer ABA kommer fram til lukkecellene (anionfelle). ABA kan fraktes opp eller ned i planten i henholdsvis xylem og floem. ABA-konsentrasjonen i xylem er vanligvis 1-15 nM, men kan ved vannstress øke til 3  $\mu\text{M}$ . ABA gir alkalisering av cytosol med pH 7.7-7.9, som aktiverer  $\text{K}^+$ -ut kanaler i stomata.

ABA hemmer lysindusert åpning av stomata. Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) og pH påvirker plasmamembranen i lukkeceller og åpning av stomata kan hindres ved å hemme  $\text{K}^+$ -innkanaler og protonpumper. Lukking av stomata skjer ved å aktivere anion-utoverkanaler som deretter aktiverer  $\text{K}^+$ -efflukskanaler. ABA hemmer blåttlysaktivert  $\text{H}^+$ ATPase, men ikke direkte.  $\text{H}^+$ ATPase kan hemmes av  $\text{Ca}^{2+}$ . ABA hemmer  $\text{K}^+$  innkanaler som er åpne når membranen hyperpolariseres av protonpumper. Hemming av  $\text{K}^+$  innkanaler via ABA skjer ved økning av  $\text{Ca}^{2+}$  i cytosol. Det er oscillasjoner i konsentrasjonen av kalsium i lukkecellene hos Arabidopsis. Åpning av  $\text{K}^+$  efflukskanaler krever langtids membrandepolarisering. Depolariseringen skjer ved ABA-indusert transient depolarisering av plasmamembranen og økning av kalsiumkonsentrasjonen i cytosol. Derved åpnes kalsiumaktiverte sakte anionkanaler i plasmamembranen som gir langtids membrandepolarisering. De sakte anionkanalene frakter anionene klorid og malat ut av lukkecellene og som bidrar til lukking av stomata. Konsentrasjonen av kalsium kan observeres ved fluorescens av fura-2 og indo-1, samt kalsium-indikatorprotein yellow cameleon.

Overskudd av plasmamembran fra celler som skrumper på grunn av tørke blir tatt



opp ved endocytose via ABA-indusert reorganisering av aktin cytoskjelett mediert av rhoGTPase.

ABA øker mengden av fosfolipidet sphingosin-1-fosfat (S1P) som gir lukking av stomata. ABA aktiverer sphingosin kinase som fosforylerer sphingosin. S1P virker via G-protein. ABA stimulerer dannelse av signalmolekylet nitrogenmonoksid (NO) i lukkeceller. Kalsium-kalmodulin eller calcineurin-B lignende proteiner (CBL) reguleres av stress.

Rotas form endres ved tørke (tørkerhizogenese). Auxin gir økt dannelse av siderøtter og greining. Høy konsentrasjon av nitrat gir redusert rotgreining.

## ABA, frøutvikling og frøhvile

ABA gir økt lagring av frølagringsproteiner og tørketoleranse. Frøhvile er regulert av ABA. ABA deltar under normal embryogenese og konsentrasjonen av ABA øker kraftig i en liten periode under frøutvikling (embryogenese). ABA deltar også i syntese og akkumulering av frølagringsproteiner og lipider. Konsentrasjonen av ABA er maksimal halveis i frøutviklingen.

Første fasen av embryogenesen er celledeling. I den andre fasen stopper celledelingen og det skjer en uttørking av embryo som går inn i en hvilefase (frøhvile) med uttørking hvor vannpotensialet kan bli -50 - -300 MPa. Det er zygoten som bestemmer mengden ABA i embryo og endosperm, mens det er morplanten som bestemmer mengden ABA i frøskallet. ABA er med å gi frøet tørketoleranse. Det lages LEA-proteiner (late embryogenesis abundant protein) som er vannløselige og inneholder mye av aminosyrene glycin og lysin. LEA-proteiner ligner på RAB-proteiner (responsive to ABA) og DHN-proteiner (dehydrin) i *Arabidopsis*.

Nylaget frø på en plante vil vanligvis ikke spire direkte, det er spiretregt og må igjennom en frøhvile. Frøhvile er en forsinkelse i spiringen og hindrer spiring på en ugunstig tid på året. Ekte hvile (dormancy) har indre årsaker i frøet, mens frø i uekte hvile (quiescens) vil spire hvis tempertur, vann- og oksygenforhold er tilfredsstillende. Frø fra planten i dormant stadium kalles primær dormancy. Frø fra planten i ikke-dormant stadium, men som blir i hvile på grunn av dårlige vekstforhold kalles sekundær dormancy.

Frøhvilen kan skyldes uferdig embryo (embryolokalisert frøhvile), eller kappeindusert frøhvile som skyldes frøbladene, frøskallet, endosperm, perikarp eller ekstraflorale organer. Embryohvile er vanlig i hassel (*Corylus avellana*) og ask (*Fraxinus excelsior*). Vannopptaket kan hindres på grunn av voks eller frøskallet kan være hardt og hindre frøspiring mekanisk ved at rota ikke klarer å trenge gjennom frøskallet. Frøskallet kan dessuten hindre gassutveksling og oksygenopptak. Lys kan påvirke rotas evne til å trenge gjennom frøskallet.

Det kan være spiringshemmere i frøskallet. Frøskall og perikarp kan inneholde spiringshemmende stoffer og ABA. Frøskallet har maternal opprinnelse, men zygote og endosperm kommer fra begge foreldreplantene. Embryohvile finnes hos hassel og ask. Havre blir dormant ved temperatur som er forskjellig fra optimal spiretemperatur.

Frøhvile kontrolleres av forholdet mellom ABA og gibberellin. Når frøet går ut av frøhvile synker konsentrasjonen av ABA, mens konsentrasjonen av gibberellin øker. Faktorer som bidrar til avslutning av frøhvilen er ettermodning ved tørking eller kjøling i fuktig miljø (imbibert frø) ved 0-10 °C (stratifisering). Noen frø har krav til lys eller fotoperiode for å kunne spire. ABA ufølsomme mutanter (*abi1*, *abi2* og *abi3*) har redusert frøhvile.

ABA akkumulerer i knopper i hvile, men konsentrasjonen av ABA er ikke korrelert med hvile, og det skjer et samvirke med gibberellin og cytokinin.

## ABA og vivipari

ABA hemmer vivipari og frøspiring. Vivipari, frøet spirer på planten, finnes hos mange frø som mangler abscisinsyre. Mutanter som har blokkert karotenoidbiosyntesen er ofte vivipare. Vivipari er naturlig hos mangrove, hvor embryo vokser gjennom frøskall og ut gjennom fruktveggen (*Rhizophora*, *Bruguiera*, *Ceriops*, *Kandelia*). Noen mangrover har kryptovivipari hvor embryo vokser gjennom frøskallet, men ikke gjennom fruktvegge (*Avicennia*, *Aegiceras*, *Nypa*). Vivipari er også vanlig hos fjellplanter som fjellbunke (*Deschampsia alpina*) og geitsvingel (*Festuca vivipara*). Vivipari kan også skje i legde i en kornåker i vått vær. Mais *vp1* er en vivipar mutant ("viviparous") i mais med blokkert karotenoidbiosyntese hvor embryo ikke går i hvile. *vp1* har også **pleiotrope effekter** på anthocyaninsyntese under frøutviklingen hvor anthocyaninsyntese i aleuronlagceller blokkeres. Genproduktet VP14 katalyserer kløyving av 9-*cis*-epoksykarotenoider som gir xanthoxal. Det er flere gener som blir påvirket, VP2,5,7 og 9. Dyrkes umodne embryoer i kulturer så vil de spire, og går ikke inn i vanlig hvile.

I 600 år gamle graver i Argentina er det funnet frø av *Canna* på innsiden av valnøtt (*Juglans*). Cannافرøet må ha blitt plassert før nøtten har utviklet seg.

## ABA og molekylærbiologi

ABA regulerer genekspresjon av flere gener. Det finnes *abi*-mutanter av *Arabidopsis* (ABA insensitive) hvor produkter fra *abi*-gener ikke bare påvirker frøutvikling og frøhvile, men også vegetativ vekst. ABA represserer gibberellinindusert av GAMYB transkripsjonsfaktorer som induserer ekspresjon av  $\alpha$ -amylase. Genaktivering skjer via DNA-bindende proteiner. ABA forårsaker at konsentrasjonen av kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) i cytosol øker kraftig. pH øker også, og dette gir en depolarisering av membranpotensialet med rask innstrømning av kationer og endret metabolisme av fosfoinositider (inositol, 1,4,5-trifosfat,  $\text{IP}_3$ ) og *myo*-inositol-heksafosfat ( $\text{InsP}_6$ ).  $\text{IP}_3$  frigis sammen med DAG (diacylglycerol) når fosfolipase C aktiveres av G-protein i plasmamembranen. Kalsiumfrigivelse via ABA øker konsentrasjon av  $\text{IP}_3$  og sykklisk ADP-ribose (cADPR). Det finnes både kalsium-avhengige og kalsium-uavhengige signalveier for ABA. Det er både ekstracellulære og intracellulære ABA-reseptorer. Pyrobactin kan etterligne ABA. Mulige reseptorer er RCAR (regulatory components of ABA receptors), samt CHLH-protein som også deltar i klorofyllsyntese.

ABA-signalveien ligner den for etylen ved ligandbinding og inaktivering av en

repressor via en fosfatase . Protein fosfatase 2C (PP2C) defosforylerer en gruppe SnRK2 kinaser. *ABI1* og *ABI2* loci koder for PP2C. Ved fravær av ABA holder PP2C SnRK2 defosforylert og inaktivert. ABI-klasse protein fosfataser interagerer med proteiner, kalsiumbindende proteiner og transkripsjonsfaktorer. ABA-aktivert protein kinase (AAPK) og stressaktivert protein kinase (SAPK) hører med i gruppen SnRK2 (sucrose non-fermenting related kinase 2) som fosforylerer transkripsjonsfaktorer. Ved tilstedeværelse av ABA så vil ABA-reseptorprotein RCAR/PYR reagere med PP2C, SnRK2 aktiveres, og fosforylerer ABA-spesifikke transkripsjonsfaktorer AREB/ABF. ABAP1 og FCA er ABA-reseptorer. ABAP1 er homolog med FLOWERINGTIME CONTROL PROTEIN A (FCA) i Arabidopsis som kontrollerer blomstring. FCA er et RNA-bindende protein i kjernen som gir blomstring ved å hemme *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*). Når ABA ikke er tilstede danner FCA et RNA represserende kompleks med proteinet FLOWERING LOCUS Y (FY) som er en polyadenylerende faktor. FCA/FY-komplekset hemmer produksjon av blomstringsrepressoren FLC. Binding av ABA til FCA blokkerer dannelsen av FCA/FY-kompleks. Mutanten *fca* er en fenotype med feil i forsinkelse av blomstring og siderotdannelse.

Reaktive oksygenforbindelser (ROS) som hydrogenperoksid ( $H_2O_2$ ), og superoksid anionradikal laget av NADPH oksidase kan brukes som sekundære budbringere. ABA bindes til en reseptor som induserer dannelsen av ROS som aktiverer kalsiumkanaler i plasmamembranen. *OST1* (*OPEN STOMATA*) koder for en autofosforylerende proteinkinase oppstrøms for ROS- og kalsiumsignal. Det finnes også stressregulerte 14-3-3 proteiner. ABA deler intermediater i signalveiene med andre hormoner. Gibberellinresponselementet GARE over gibberellin-induserbart og ABA-represserbart uttrykk av alfa-amylase i byggkorn.

## Etylen

### Historien om etylen

Egypterne oppdaget at de kunne få fiken til å modne raskere ved å lage et snitt i dem. Kineserne brant røkelse i lukkede rom med pærer for å øke modningen. På midten av 1800-tallet hvor det ble vanlig å bruke kullgass til belysning mistet trærne bladene i nærheten av steder med lekkasjer fra gassrørledningene. Det stemmer godt med det vi vet idag at gassen etylen (eten) stimulerer aldring og får plantene til å felle bladene og at etylen deltar ved modning av frukt.

I 1890-årene ble røyk brukt på ananasplantasjer i Puerto Rico og ved produksjon av mango på Filippinene for å få jevnere og synkron blomstring av ananas. Blomstring av mango kan induseres av etylen. Gassen etylen var den aktive komponenten i røyken og viste seg etterhvert å ha en rekke effekter på plantenes vekst og utvikling. Det ble oppdaget at parafinfyrt oppvarming under transport av citrusfrukter ga økt modning av frukten. Denny patenterte i 1923 en metode for å modne citrusfrukter i nærheten av forbrenningsreaksjoner. Dette skyldes etylen som ble dannet under forbrenningen. Det er kjent eksempler på oppvarming av drivhus med parafinbrenner har gitt så mye etylen at alle blomstene har visnet.

Russeren Dimitry Nikolayevich Neljubow ved det botaniske instituttet i St. Petersburg beskrev i 1901 den såkalte **trippelresponsen** på mørkespirte erterplanter forårsaket av lave konsentrasjoner etylen. Trippleffekten hos etiolerte erterplanter består i:

- 1) Ved lateral celleutvidelse blir hypokotylen tykk og klumpete av vekst. Den apikale kroken får økt kurvatur pga asymmetrisk vekst og lateral celleekspansjon bak den apikale kroken.
- 2) Strekningen blir redusert.
- 3) Røttene mister evnen til å orientere seg etter tyngdekraften.

Trippelresponsen er en stressindusert tilpasning til å trenge seg gjennom hard jord.

Trippelresponsen hos *Arabidopsis* er kort hypokotyle, redusert rotstrekning og ekstra kroking av den apikale kroken.

Fra 1959 med utviklingen av gasskromatografen med flammeionisasjonsdetektor fikk etylenforskningen ny fart.

## Generelt om etylen - aldringshormonet

Alle delene av planten kan lage etylen ( $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ ). Blomster lager mye etylen like før de visner, og etylen deltar i aldringsprosesser i blad og modning av frukt. Aldring defineres som prosessene som skjer før celledød og omfatter degradering av protein, RNA, cellulose, pektin, klorofyll og andre metabolitter.

Den apikale kroken som lages hos tofrøbladete planter i mørke skal beskytte bladet på veien gjennom jorda. Kroken dannes ved at cellestrekningen på innsiden av kroken hemmes og i denne forskjell i vekst på inn og utside av kroken deltar etylen. Den apikale kroken opprettholdes i mørke, men rødt lys gjør at den åpnes. Unge blad danner mer etylen enn eldre utvokste blad.

Etylen gir økt strekning av bladstilk og stengel hos neddykkede akvatiske planter. Etylen gir økt strekning hos neddykkete akvatiske planter som dypvannsriss og nøkkeroser. Hos ris stimulerer etylen internodiestrekning. Det blir økt strekning fordi konsentrasjonen av etylen øker i aerenkym. Etylen gir økt følsomhet for gibberellin (gir strekning) i cellene i interkalært meristem ved å senke konsentrasjonen av abscisinsyre. I vannsyk jord deltar etylen når det dannes luftvev (aerenkym) med økt mengde cellulase i røttene. Samtidig blir det økt vekst på oversiden av bladene hos tofrøbladete planter (epinasti) fordi den sykliske aminosyren ACC som brukes til å lage etylen fraktes opp i skuddet via transpirasjonsstrømmen.

Etylen øker konsentrasjonen av mRNA transkripter for enzymene cellulase, kitinase,  $\beta$ -1,3-glukanase, peroksidase og chalkon syntase.

Avhengig av art kan i tillegg etylen:

- 1) Modifisere rotvekst og mengden rothår. Etylen induserer dannelse av røtter, adventivføtter og rothår.
- 2) Bryte frøhvile og gi økt spiring. Etylenproduksjon og frøspiring er korrelert.
- 3) Påvirke kjønnsuttrykk hos planter med atskilte hann- og hunnblomster. Flere hunnblomster i agurk, synkronisert blomstring hos ananas.
- 4) Delta i thigmomorfogenese.
- 5) Øke lateksutskillelse og gummosse.

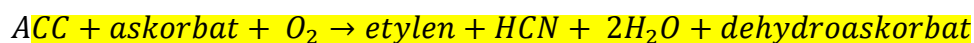
6) Øke celledørrelse (hypertrofi).

Etylen er et umettet hydrokarbon, og andre umettede hydrokarboner som propylen og vinyklorid kan ved høye konsentrasjoner gi etyleneffekt.

## Biosyntese av etylen

I 1979 oppdaget Adams og Yang ved Universitetet i California, Davis, at en syklisk aminosyre som kom fra aminosyren methionin var et intermediat i biosyntesen av etylen. Den sykliske aminosyren var 1-aminocyklopropan-1-karboksylysyre (ACC), allerede funnet 1953 i tyttebær. ACC lages fra S-adenosylmethionin katalysert av enzymet **ACC syntase** som finnes i cytosol. Det er et pyridoksalfosfatenzym som hemmes av aminoksydedikksyre (AOA) og aminoetoksyvinylglycin (AVG). Ved genkloning kan genet for ACC syntase uttrykkes i bakterien *E. coli*, og det ble mulig å få laget nok av enzymet til å studere det nærmere. Det ligner i aktivitet på en aminotransferase. Det finnes flere ACC syntasegener i en multigenfamilie som er forskjellig regulert. I tomat er det ni gener for ACC syntase, i Arabidopsis åtte gener med forskjellig rolle i forskjellige vev. ACC syntase er et hastighetsbegrensende og regulerende ledd i biosyntesen av etylen. Det andre produktet fra reaksjonen, 5'-metylthioadenosin omsettes i **Yang-syklus**. Auxin gir økt syntese av etylen ved å øke mengden ACC syntase som resultat av økt transkripsjon. ACC syntase får økt stabilitet i perioder med høy etylenproduksjon.

Neste trinn i etylensyntesen katalyseres av **ACC oksidase** som er en Fe<sup>2+</sup>-askorbat oksidase.



Enzymet kodes av en multigenfamilie som transkripsjonsaktiveres av en rekke stimuli. Det omdanner ACC til etylen, karbondioksid og blåsyre.

Karbonatom 3 og 4 methionin finnes igjen i etylen, karbonatom 2 i blåsyre (HCN) og karbonatom 1 blir til CO<sub>2</sub>. Blåsyre (HCN) avgiftes ved å reagere med aminosyren cystein som gir β-cyanoalanin og videre asparagin. ACC oksidase kan aktiveres av CO<sub>2</sub> og hemmes av kobolt (Co<sup>2+</sup>). Mengden ACC oksidase øker under modningen av tomat. ACC kan også omdannes til et malonyl-ACC katalysert av ACC N-malonyltransferase.

Det er kjent at litium (Li<sup>+</sup>) påvirker signalveien for fosfoinositider og Li<sup>+</sup> kan indusere ACC syntaseaktivitet.

Stresstilstander som (tørke, flom, kjøling, ozon og mekanisk såring gir økt transkripsjon av genet for ACC syntase.

Etylen oksideres til etylenoksid og hydrolyseres til etylenglykol i katabolisme.

I jord er det bakterier med enzymet ACC deaminase, som også finnes i Arabidopsis, som omsetter ACC til ammonium og 2-ketobutyrat.

## Etylen og fruktmodning

Frukt har sannsynligvis utviklet seg fra blader gjennom evolusjonen og er derfor

analogt med disse grønne tidlig i utviklingsfasen. Fotosyntese i bladene har stor betydning for at frukten skal vokse. Sukker fra fotosyntesen fraktes over til frukten. Frukten sin egen fotosyntese betyr lite for veksten. På samme måte som når bladene blir eldre forsvinner det grønne klorofyllet når frukten modner, og frukten får farger som kan tiltrekke seg oppmerksomhet og være med på å spre frøene. Fargen endres ved at kloroplaster omdannes til kromoplaster eller ved at det lages anthocyaniner, noe som tiltrekker fruktspisende (frugivore) dyr. Grønne kloroplaster i tomater omdannes til røde kromoplaster med lykopen, klorofyll brytes ned av klorofyllase, cellevegger og pektin brytes ned, frukten får bedre smak og aroma. Frukten er moden når den er spisbar. Celleveggen hydrolyseres og frukten blir bløt og saftig ved at pektinet brytes ned. Det er ingen skarp grense mellom modning og aldring av frukten. Hvis frøene spres mekanisk sprekker frukten opp ved modning. Konsentrasjonen av etylen øker ved bladavkastning, aldring av blomster og fruktmodning.

Klimakteriske planter har to systemer for etylenproduksjon. I vegetativt vev hvor etylen hemmer egen syntese, og i frukt og aldrende blad hvor etylen autokatalytisk aktiverer sin egen syntese.

Noen typer frukt som epler og pærer skiller ut store mengder etylen under modningen. Dette skjer samtidig med en økt respirasjon (celleånding) i en periode hvor frukten har mest appetittvekkende farge, lukt og konsistens. Konsentrasjonen av organiske syrer, fenoler og garvestoffer synker, mens konsentrasjonen av sukker, farge og eteriske stoffer stiger, noe som gir god smak. Dette stadiet kalles fruktens klimakterium. Frukt som responderer på etylen kalles klimakterisk frukt. Eksempler på **klimakterisk frukt** er epler, banan, avokado, cherimoya, fiken, mango, oliven, fersken, pære, plomme, tomat, og persimmon. Eksempler på ikke-klimakterisk frukt er kirsebær, citrus, vindrue, rødt rips, jordbær og vannmelon.

Det er mange faktorer som stimulerer etylensyntese i planter, inkludert etylen selv. Selvstimulering kalles **autokatalytisk etylensyntese**. Dette skjer ved at etylen gir økning i ACC oksidase som gjør at det lages enda mer etylen. Mengden etylen vil imidlertid begrenses av tilgangen på forløperen ACC. Etylen brukes i bananmodnerier for å få jevn modning av bananer. Gamle husråd som å få økt modning av grønne tomater om høsten ved å lagre dem sammen med epler får derved også sin forklaring. Høy konsentrasjon av karbondioksid hemmer etylenvirkning. Fruktlagring i en atmosfære med 5 % karbondioksid hemmer etylensyntesen i frukten og øker derved holdbarheten. Kalsium gir redusert aldring. Epler impregnert med kalsium og voks får økt holdbarhet. Følsomme plantedeler som blomster av nellik kan responere på ned til 1 ppb etylen. 1 ppm etylen i luft gir ca.  $10^{-9}$  M etylen i væskefase. Rundt modne epler kan det være opptil 2500 ppm etylen. Kaliumpermanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) absorberer og fanger opp etylen.

## Etylen - aldring og bladfelling

Etylen kan stimulere aldring av plantemateriale. Blader og frukt felles og blomster visner i nærvær av små mengder etylen. Derfor bør ikke blomster plasseres sammen med frukt som skiller ut etylen. Slik frukt bør heller ikke lagres sammen med



grønnsaker som salat, agurker og kål, fordi etylen gjør at klorofyll brytes ned og grønnsakene får gul farge. Etylen øker bladaldring og konsentrasjonen av klorofyll synker, motsatt effekt av cytokinin som forsinker aldring.

Etylen i avkastningssonen hvor blad er festet til stilken er regulert av plantehormonet auxin. I den første fasen av livssyklus til et blad er det høy konsentrasjon av auxin som reduserer følsomheten for etylen i absisjonssonen. Når bladet blir eldre reduseres mengden auxin, noe som gjør avkastningssonen mer følsom for etylen. I avkastningsfasen brytes celleveggene i absisjonssonen ned katalysert av cellulase og pektinase.

Hovedaksen i et kornaks kalles rachis. Etter pollinering utvikles frukten i småaks. En forutsetning for at et kornslag kunne bli brukt til menneskeføde var en sterk rachis og at ikke kornene falt av ved berøring og kutting av strået.

Av ca. 60 arter med storfrøet gras vokser halvparten av dem i middelhavsområdet, et viktig sted for utvikling av korndyrking.

Fjernes visne blomster fra en plante slik at utviklingen av frø og frukt blokkeres, forsinkes samtidig aldringsprosessen. Vi bruker denne teknikken ved å knipe av de eldste blomstene på prydplanter for å forlenge blomstringen. Hvis de nye belgene (fruktblad) på erter eller bønner fjernes fortsetter blomstringen. Erter er selvpollinerende og hindres pollineringen stopper aldringsprosessen.

Sølvsalter hemmer etylenvirkning og på denne måten kan snittblomster holde seg lenger hvis de står i et holdbarhetsmiddel tilsatt f.eks. sølvthiosulfat.  $\text{Ag}^+$  hemmer overgangen fra ACC til etylen. Det samme gjør kobolt ( $\text{Co}^+$ ) som hemmer ACC oksidase.

1-metylsyklopropan og *trans*-syklookten reduserer etylenvirkning. 1-metylsyklopropan (MCP) bindes irreversibelt til etylenreseptor og blokkerer flere etylenresponser. MCP selges som EtylBloc® og gir økt holdbarhet av snittblomster.

Løvefellingsmiddelet 2,4,5-T i "Agent Orange" øker biosyntesen av etylen.

ABA deltar også i aldringsprosesser.

## Stress og mekanisk påvirkning

Skades en plante eller utsettes for forskjellige typer stress som luftforurensninger, tørke, vannsyk jord, mekanisk påvirkning eller angripes av insekter eller sykdomsfremkallende organismer starter planten å lage etylen.

Når et frø spirer og møter sterk motstand i jorda blir både rota og skuddet tykke og klumpete. Dette gir kimplanten større styrke og mulighet til å trenge igjennom den harde jorda og effekten skyldes bl.a. etylen. Etylen får plantecellene til å bli mer firkantet av vekst istedet for langstrakte når de møter mekanisk motstand. Dette skjer ved at etylen styrer kortikale mikrotubuli til å legge cellelosefibrillene i celleveggen i en annen retning slik at cellene utvider seg på tvers istedet for i lengderetning. I trippeleffekten vokser røttene ut til siden. Dette kan være en mekanisme som gjør at røttene vokser rundt harde objekter i jorda som de treffer på. I jorda opprettholdes kroken via etylenindusert assymmetrisk vekst, med mer vekst på yttersiden av



stengelspissen. Når skuddet kommer opp i lyset er det rødt lys som hemmer etylendannelse, dette gir økt vekst på innsiden og åpning av apikal krok.

## Etylen og genmodifiserte planter

Fra handels- og gartner næringen er det et ønske om økt holdbarhet av frukt, grønnsaker og prydplanter. Den genteknologiske industrien har derfor forsøkt å møte dette ønsket ved å lage genmodifiserte planter som ikke har evnen til å lage etylen. Inntil nå er det to hovedmetoder som er blitt brukt:

- 1) Antisens mRNA teknikk.
- 2) Kosuppresjon eller "gene silencing".

Antisens mRNA teknikk går ut på å sette inn et gen i planten som lager en nukletidsekvens som er komplementær til et spesifikt mRNA (sens mRNA). Komplementært RNA hybridiseres til sens mRNA for enzymet som man ønsker skal bli blokkert. Dobbeltrådet antisens RNA - sens mRNA brytes raskt ned i cellen og hybridiseringen hindrer dannelsen av funksjonelt protein fra mRNA. Slik antisens teknikk er blitt brukt til å fremskaffe planter med redusert aktivitet av ACC syntase og ACC oksidase. De genmodifiserte plantene vil lage mindre etylen og derved forsinkes aldringsprosessene.

Kosuppresjonsteknikk går ut på at man tar f.eks. genet fra ACC syntase eller ACC oksidase fra en varietet eller nærstående art og setter det inn i planten man ønsker skal ha redusert etylensyntese. Man skulle tro at dette ville gi økt etylensyntese, men resultatet viser seg å være stikk motsatt. De genmodifiserte plantene responderer med økt nedbrytning av mRNA som skulle ha blitt brukt til å lage disse enzymene og derved blokkeres etylensyntesen. Det er blitt spekulert på hvorfor dette skjer. De skyldes muligens plantens respons på det som den oppfatter som et invaderende RNA-virus.

## Kunstig tilført etylen

Siden etylen er en gass har det vært vanskelig å finne kommersielle måter å få tilført etylen til planter. Imidlertid er 2-kloroetylphosphorsyre (Ethephon, Ethrel) et sprøytemiddel som omdannes til etylen inne i planten. Sprøytemiddelet brukes til å få jevn blomstring av ananas, å øke gummiutfloden fra gummitrær samt gi flere hunnblomster på agurkplanter. Det kan også brukes til å fjerne blader på planter som skal høstes mekanisk. I Norge er slikt middel tillatt brukt for å få jevnere modning av tomater og til tynning av fruktsetting på plomme- og epletrær.

## Etylen og molekylærbiologi

Arabidopsis mutanten *etr1* (etylenresistent 1) har mutasjon i genet for etylenreseptorprotein, og *ein2* (etylen-insensitiv 2) har en mutasjon lenger ut i signaloverføringsveien. Etylenresistente eller etyleninsensitive mutanter har

etylenrespons i fravær av etylen og er en konstitutiv mutant. Etylenreseptoren ETR1 ligner bakteriell tokomponent histidin kinase, og både cytokinin og fytokrom virker etter samme prinsipielle signalvei med tokomponent histidin kinase. ETR1, ERS1, ERS2 og EIN4 er etylenreseptorer, lokalisert til endoplasmatisk retikulum. Ved binding av etylen til reseptoren gir dette inaktivering av repressoren CTR1 (CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1), som deretter aktiverer transkripsjonsfaktoren EIN3. I fravær av etylen vil etylenreseptoren aktivere kinaseaktiviteten til CTR1, som gir undertrykking av etylenrespons. Etylenreseptoren trenger kobber eller zink. *RAN1* (RESPONSIVE TO ANTAGONIST 1) i *Arabidopsis* koder for et protein som bringer kobber inn i et jerntransportprotein. Mutanten *ran1* lager ikke etylenreseptor. Etylenreseptorene er aktive i fravær av etylen og etylen skrur av reseptorene.

Det er etylenresponselementer (ERE) i etylenregulerte gener. ERF1 (etylenresponsfaktor 1) koder for protein som hører med til ERE-bindende protein transkripsjonsfaktorer. EIN3 transkripsjonsfaktorer deltar i signalveien. Signalrekkefølgen er ETR1 → EIN2 → EIN3 → CTR1 →→ CTR1 ligner RAF-1, en MAPKKK serin/threonin protein kinase (mitogenaktivert protein kinase kinase kinase). MAP kinase kaskaden gir fosforylert transkripsjonsfaktor som regulerer genekspressjon i dyr To F-boks protein EBF1 og EBF2 (EIN3 binding F-boks 1 og 2) aktiverer ubiquitinerings og gjør et EIN3 degraderes via proteosom. Etylen hemmer EBF/EBF2-avhengig degradering av EIN3. Etylen er hydrofob og kan gå gjennom membraner på lignende måte som steroidhormoner og NO.

Den auxinufølsomme mutanten *axr* har ikke apikal krok.

## Brassinosteroider

I 1960 startet J. W. Mitchell og medarbeidere ved USDA å undersøke pollen for å lete etter nye vekstsubstanser. Det hadde vært lenge kjent at pollen var en rikt råstoff for plantevekstregulatorer. Som bioassay for å påvise hormoner brukte de økt vekst av det andre stengelinternodiet fra bønner. Størst vekst fikk de fra pollen fra svartor (*Alnus glutinosa*) og raps (*Brassica napus*). De fant et stoff som ga så rask vekst at stengelen ble splittet over det første bladparet. De mente at årsaken til veksten måtte være en ny gruppe fettløselige hormoner som de kalte brassiner. Bier ble brukt til innsamling av rapspollen. Fra 227 kilo med pollen fra raps ble det isolert 10 mg av aktivt krystallinsk materiale kalt brassinolid, det første plantevekststoff i planter med steroidstruktur. Idag er det kjent 60 forskjellige brassinosteroider isolert fra planter og grønnsaker. Eksempler på steroidhormoner hos dyr er østrogen, androgen, progestin og binyrebarkhormoner (glukokortikoider og mineralokortikoider). Et annet bioassay baserer seg på bladbiten fra etiolerte risplanter hvor brassinosteroider gir mer eller mindre knekk pga. svelling i skjøten mellom blad og bladskjede, en brassinosteroid-avhengig celleekspansjon. Celler på overside og nær bladfeste utvider seg mer enn på undersiden. Denne bladinklinasjonen ligner på epinasti forårsaket av etylen. Brassinosteroider øker celleveggløsning via ekspansin, xyloglukan endotransglukosylase/hydroksylase og organisering av mikrotubuli. Brassinosteroider virker lokalt på syntesestedet. Brassinosteroider finnes i pollen, pollenblad, frø, i ungt

vegetativt vev i blad, stengel, røtter og blomster. Brassinosteroider deltar i celledeling, cellestrekning i skudd og røtter, frøspiring, fotomorfo-genese, opprettholdelse av apikal dominans, vaskulær differensiering (uavhengig av auxin) hvor det dannes xylem, men floemdannelse hemmes, dannelse av siderøtter, hannsterilitet, reprod-uktiv utvikling, bladaldring og stressrespons og forsvar. Rotvekst kan både hemmes og aktiveres. Brassinosteroider opprettholder den apikale kroken og gir økt strekning av pollenslanger.

## Brassinosteroider og biosyntese

Steroler i planter lages i en grein av terpenoidveien, fra cykloartenol, som kommer fra squalen via 2,3-epoksysqualen. To molekyler farnesyldifosfat danner et C30 triterpen squalen. Gjennom ringdannelse omdannes squalen til et pentasyklisk triterpen (sterol) og alle steroider i planter lages fra cycloartenol via oksidasjoner og modifikasjoner, via campesterol og castasterol til brassinolid. Brassinosteroider har lik struktur som ergosterol i plasmamembran og tonoplast. Andre steroider man finner i planter er campesterol, sitosterol, diosgenin, castasteron og stigmasterol. Det er lite kolesterol i planter. Castasteron fra galler på kastanje har svak brassinosteroid aktivitet. Brassinazol er et triazol som hemmer biosyntesen av brassinosteroider.

Brassinosteroider er kommersielt tilgjengelig i form av 24-epibrassinolid, med ca. 10% av aktiviteten til brassinolid og 28-homobrassinolid. Det er hydroksylgrupper på steroidsidekjeden ved karbonatom C<sub>22</sub> og C<sub>23</sub>, en hydroksylering kodet av genene *DWF4* og *CPD* (constitutive photomorphogenesis and dwarfism) Det er en *cis* glykol i ring A og ring B er et 7-ring lakton. *DET2* (de-etiolated 2) koder for steroid-5 $\alpha$ -reduktase som ligner pattedyr og katalyserer en NADPH-avhengig omdannelse av testosterol til dihydrotestosteron.

## Brassinosteroider og molekylærbiologi

Brassinolid binder seg i et innlandsdomene til reseptoren BRI1 i plasmamembran, en reseptorkinase, en leucinrik repetert (LRR) reseptor kinase som fosforylerer serin/threonin, tyrosin, og gir autofosforylering. Reseptoren har likhetstrekk med fibroblast vekstfaktorreseptor hos dyr. Hos dyr gir autofosforylering videre fosforylering av Raf, MEK, og signalet forsterkes ved fosforylert MAPK-kaskaden, mitogenaktivert protein i en serie MAPKKK, ERK fosforylert protein som går inn i kjernen og fosforylerer en transkripsjonsfaktor. Hos plantene vil BR-reseptoren inaktivere repressoren BIN2 (brassinosteroid insensitiv 2), en protein kinase. Fosforylert BIN2 går inn i kjernen. Det er en brassinosteroid signal kinase (BSK), og en protein fosfatase BSU1, brassinosteroid signalkomponent 1, som inaktiverer repressoren BIN2 ved defosforylering av fosforylert tyrosin. Inaktivering av repressorprotein BIN2 gir aktivering av transkripsjonsfaktorene BES1 (bri1-EMS-supressor) og BZR1 (brassinazol resistant1). I nærvær av brassinosteroid defosforyleres BES1 og BZR1, og de binder seg selv til DNA og regulerer genekspressjon, men de kan også binde seg til andre transkripsjonsfaktorer. En slik negativ regulering ved inaktivering av en repressor ved protein defosforylering gir rask fysiologisk respons.

## Salicylsyre

De gamle grekere, indianere og vikinger visste at bark fra selje virket febernedsettende og lindret smerte. I 1828 isolerte den tyske farmakologen Johann A. Buchner små krystaller av et bittert stoff som seinere skulle vise seg å være salicin, glukosidet av salicylalkohol. Salicylalkohol kunne oksideres til salicylsyre og i 1838 fikk stoffet navnet l'acide salicylique eller salicylsyre. Navnet kom fra det latinske slektsnavnet for selje - *Salix*. Spirsäure ble isolert fra mjøddurt (*Spiraea ulmaria*) med det synonymet navnet *Filipendula ulmaria*. Spirsäure var det samme som salicylsyre. Rundt 1860 klarte man i Tyskland å lage salicylsyre syntetisk. Det viste seg imidlertid at salicylsyre ga mageirritasjoner og Felix Hofmann som arbeidet i firmaet Bayer fant en mindre sur form - acetylsalicylsyre. På slutten av 1800-tallet startet Bayer salget acetylsalicylsyre med handelsnavnet aspirin, som henspilte på *Spiraea* og acetyl.

Salicylater er et samlenavn på stoffer som gir lignende effekt som salicylsyre. De er fenoler, en aromatisk ring med hydroksylgruppe og syregruppe. I 1778 fant Lamarck at liljer i slekten *Arum* produserte store mengder varme i forbindelse med pollingen av blomsten. Temperaturen i blomsten økte opptil 15 grader over omgivelsestemperaturen. Nederlenderen Adriaan van Herck framsatte i 1937 en hypotese om at det måtte finnes et stoff kalt kalorigen som satte igang varmeproduksjonen. Det viste seg at kalorigen var salicylsyre. Varmen skyldes økning i cyanidtolerant respirasjon i mitokondriene. Istedenfor å lage ATP produseres det varme. Salicylsyre beveger seg fra hannblomstene til den kolbeformede spadiks og induserer der varmeproduksjon like før blomstring. Dette gir fordampning av illeluktende aminer og indoler som tiltrekker pollinerende insekter. Slik varmeproduksjon i blomstene er også kjent fra *Cycas* og andre plantefamilier bl.a. lotusblomsten (*Nelumbo nucifera*) (Nature 383 (1996) 305). Salicylsyre kan forsinke aldring ved å redusere mengden etylen.

Noen sykdomsresistente planter begrenser spredningen og infeksjonen av en sykdomsfremkallende organisme (patogen) til et lite område hvor plantecellene dør. Denne beskyttende celledøden kalles **hypersensitivitetsreaksjon**.

Hypersensitivitetsreaksjonen kan også lede til **systemisk ervervet resistens**, det vil si at det sendes et signal til andre deler av den sykdomsangrepne planten. Dette signalet gjør at resten av planten forbereder et beskyttelsesapparat mot det kommende patogenet. Under hypersensitivitetsreaksjonen lages store mengder salicylsyre. Fri salicylsyre eller metylsalicylat kan bevege seg i floem eller xylem og deltar i systemisk ervervet resistens og forsvar mot sykdommer.

Assosiert med disse to skjer også syntese av patogeneserelaterte proteiner. Salicylsyre kan sammen med andre fenoler gi blomstring hos andmat (*Lemna*) ved kort dag og erstatter lang dag.

## Jasmonat - fra linolensyre

Jasmonat ble først isolert fra oljen fra *Jasminum grandiflorum*. Jasmonater er syklopentanonforbindelser og lages fra linolensyre i røtter skudd og frukt. Jasmonater har blitt funnet i høyere planter, bregner, moser og sopp. Jasmonatene påvirker en lang rekke prosesser i plantene ved å hemme vekst og fremskynde aldring. Jasmonat deltar i fruktmodning, dannelse av rotknoller i potet, stomatalukking, dannelse av lagringsproteiner, hemmer cellevekst og spiring i frø og pollen. Tilføres jasmonater kunstig til planter gir de felling av bladstilk og krølling av slyngtråd. Jasmonat aktiverer gener som koder for proteaseinhibitorer, fenylalanin ammonium lyase, lipoksygenase og chalcon syntase.

*Artemisia tridentata* som skades kan frigi flyktig metyljasmonat i tilstrekkelige mengder til at planter i nærheten lager proteaseinhibitorer. Jasmonat ligner strukturmessig på prostaglandiner fra pattedyr som blir laget fra umettetete fettsyrer.

Biosyntese av jasmonat

Biosynteseveien av eicosanoider hos dyr omfatter prostaglandiner, prostacykliner, thromboxaner og leukotriener er et autokrint signalsystem som deltar ifm. smerte, infeksjon og feber, aggregering av blodplater og sammentrekning av glatt muskelatur. Første trinn i denne veien er at fosfolipase A<sub>2</sub> spalter av arakidonsyre. I tillegg dannes lysofosfatidylcholin som kan regulere ionekanaler via protein kinase. Synteseveien til prostaglandiner fra arakidonsyre (C20:4) ligner på syntesen av jasmonat fra linolensyre (C18:3) i planter. Jasmonat lages fra den umettete fettsyren linolensyre. Første trinn katalyseres av en **lipoksygenase** og det dannes et hydroperoksid (13-hydroperoksylinolensyre). **Allenoksid syntase** lager et epoksid fra hydroperoksidet (12,13-epoksylinolensyre). Det skjer en ringdannelse katalysert av **allenoksid syklase** og produktet er 12-oksofytodiensyre. Deretter virker en reduktase etterfulgt av  $\beta$ -oksidasjonsreaksjoner som lager jasmonat. Det er interessant at virkningsmekanismen for salicylsyre hos mennesker er å påvirke syntesen av prostaglandiner. Man kan også tenke seg et nært samvirke mellom salicylsyre og jasmonat.

## Systemin

Systemin er et lite polypeptid med 18 aminosyrer som produseres som respons på såring og insektsangrep. Systemin transporteres rundt i planten hvor syntesen av proteinase inhibitorer startes.

## NO (nitrogenmonoksid) - et signalstoff

NO, som kan finnes i gassform, lages fra aminosyren arginin katalysert av enzymet NO syntase. Hos pattedyr spiller NO en viktig rolle som signalstoff ved å regulere prosesser i nerve- og immunsystemet, og i blodomløpet, bl.a. blodtilstrømning til organer. NO kan dessuten produseres fra mikrobielle prosesser i jorda NO, fra

forbrenningsreaksjoner og NO deltar i flere kjemiske reaksjoner i atmosfæren. I 1992 valgte tidsskriftet *Science* NO som "årets molekyl". NO er et radikal og kan derved virke over korte avstander i cellen før det blir deaktivert av antioksidantforsvaret i cellene. Hos planter er det indikasjoner på at NO deltar i forsvaret mot sykdomsfremkallende organismer som et cytotoksin.

## Signaloverføring

Fra ytre stimuli via genprodukt til vekstrespons og utvikling av form og respons

Plantene har evne til å registrere de fysiske-kjemiske omgivelsesfaktorene ved hjelp av reseptorer i cellene. Persepsjonen skjer i reseptorproteiner i membranene eller cellene, som har et registrerings-, respons- og reguleringsdomene. Receptorene er proteiner f.eks. reseptorlignende protein kinaser, men membranpotensial kan også virke som en receptor. Skjer det endringer i membranpotensialet kan dette føre til åpning av spenningsregulerte kanaler. Ionekanaler kan virke som en receptor, og åpner eller lukker seg som respons på et signalmolekyl som bindes til proteinet som lager ionekanalene f.eks. kalsiumkanaler. Det må i tillegg finnes et system nedstrøms som kan overføre signalene videre. Via en signaloverføringsvei blir registrerte signaler omformet til endring i fysiologi, utvikling og form. Eksempler på ytre signaler er lys, karbondioksid, vann, mineralnæring, tyngdekraft, lav temperatur, frost, varme, vind, pH, oksygen, mekanisk berøring, sykdom, redoksnivå og organiske stoffer. Indre signaler kan overføres over lange avstander via xylem og floem, eller over korte avstander fra celle til celle eller i en celle. I signalveien deltar ionekanalene, hormoner og andre lavmolekylære signalstoffer, protein kinaser, transkripsjonsfaktorer og reguleringsgener. Opptil 4% av genomet koder for protein kinaser.

Når frø skal spire er helt avgjørende for om de vil overleve eller ikke. En frøplante som vokser i mørke er **etiolert** og er helt forskjellig i forhold til en som utvikler seg i lys. Effekten av lys på formutviklingen kalles **fotomorfogenese**. Sammenlignet med lys får en frøplante i mørke økt strekning og mindre bladplate. Utviklingen av kloroplastene hos blomsterplantene trenger lys, unntatt gymnospermer og alger, og etiolerte planter er derfor blekgule. I mørke utvikles proplastider seg til etioplaster. I lys vil etioplastene omformes til kloroplaster. En plante som trives best i godt lys vil få annerledes vekstform hvis den vokser i skygge. Et blad vil utvikle seg forskjellig om det står i sollys eller skygge, men her vil en skyggeplante og solplante respondere forskjellig. I epidermis er det bare lukkecellene i spalteåpningene som utvikler kloroplaster. Planter kan bøye seg mot eller fra lyset (**fototropisme**). Planter som vokser tørt og varmt blir **xeromorfe**. Er det tørt blir epidermis tykkere og utskillelsen av kutikula og voks øker. I et tre vil greiner som vokser parallelt med bakken få en annen struktur enn de som vokser rett opp. Tyngdekraften avgjør i hvilken retning et planteorgan vil vokse (**gravitropisme**). Mekanisk berøring og vind gir redusert høydevekst (**thigmomorfogenese**). Lavt partialtrykk av oksygen kan gi dannelse av aerenkym. Konsentrasjonen av karbondioksid kan påvirke åpning og lukking av spalteåpningene. Hva er det i cellene som registrerer ?

Lys blir absorbert av pigmenter bundet til proteiner. Disse kan registrere både lysfluks



og spektralfordeling. Tyngdekraften registreres av statolitter (stivelseskorn) i cellene og gir forklaring for hvorfor plantedeler vokser rett opp eller ned. Men hva er det som registrerer at noe skal vokse i en vinkel i forhold til tyngdekraften ?

Hvordan registrer plantene temperatur ? Temperaturendringer kan gi endret flyt i membranene og endret hastighet på biokjemiske reaksjoner, men er det noen egen receptor ?

Hva er det som registrerer berøring ? Er det celler i epidermis, eventuelt skyldes det sammenpressing og bøyning av celler og membraner ? Er det enzymer i mitokondriene som registrerer endring i oksygenkonsentrasjon og virker som receptor ? Er det andre systemer i cytoplasma som kan måle redoksnivået ? Er det enzymer i kloroplastene i lukkecellene i spalteåpningene som måler endring i karbondioksidkonsentrasjon ? Kan cellene registrere endringer i pH dvs. måle protonkonsentrasjoner ? Hvordan registrerer cellene at det blir mangel på et nødvendig grunnstoff, eller motsatt hvis det blir for høy saltkonsentrasjon ? Hvordan måler cellene vannmangel ?

Det er bare bestemte typer cellelev som skal respondere på en bestemt type receptor på et gitt tidspunkt f.eks. etylen som gir virkning i en moden frukt. Auxin gir strekning av havrekoleoptiler, man kan også få celler i pericykel til å gi siderøtter. Dette er eksempler på at forskjellige typer cellelev responderer forskjellig.

## Signaloverføring hos prokaryoter

Bakterier kan raskt tilpasse seg endringer i omgivelsene ved å endre metabolismen, skille ut stoffer, bevege seg eller sporulere. Bevegelige bakterier kan flytte seg i en gradient av ytre omgivelsesfaktorer. For å kunne reagere på et ytre signal må:

- 1) Bakterien kunne registrere det ytre stimulus.
- 2) Stimulussignalet må forsterkes og overføres.
- 2) Det må føre til en ønsket respons.

Bakterier har en signaloverføringssystem basert på to komponenter. Bakteriene registrerer kjemiske stoffer (ligander) i miljøet vha. av receptorer på celleoverflaten. Ligander bindes til sensorproteiner i plasmamembranen eller i periplasmarommet mellom cellevegg og plasmamembran. Signalet fra det ytre stimulus overføres til et responsmottakerprotein ved at det skjer konformasjonsendring i sensorproteinet ved binding av liganden. Overføringen av signalet skjer ved fosforylering av et mottakerdomene og sensorproteinet har et transmitter domene som virker som en autofosforylerende **histidin kinase**.

Slike tokomponentsystemer har også blitt funnet hos gjær og planter. Fytokrom har blitt funnet i bakterier og responderer på R/MR og disse ligner på bakterielle sensorproteiner. Gener som koder for receptorene for cytokinin og etylen inneholder domener med autofosforylerende histidin kinase.

Choleratoksin bruker  $\text{NAD}^+$  til å overføre ADP-ribose til G-proteiner og hemmer GTPase. Derved bryter bakterietoksinet signaloverføringsveier.

## Signaloverføring hos eukaryoter



Dyrene utviklet et nervesystem og et endokrint system for å kunne tilpasse seg endringer i omgivelsene. Plantene utviklet ikke noe nervesystem, men et hormonsystem. For å kunne gi virkning må plantehormonene bindes til en receptor. Vanligvis er reseptorene proteiner festet til membraner. Steroidhormonene er hydrofobe og kan passere plasmamembranen. Reseptorene som binder steroidhormoner virker som transkripsjonsfaktorer, DNA-bindende proteiner som er istand til å starte transkripsjon av bestemte gener etter at hormonet er bundet. Hormonpeptider kan virke ved å binde seg til plasmamembranen. Receptorene for gibberelliner og abscisinsyre sitter celleoverflaten. For auxin finnes reseptorene både på celleoverflaten og i cytoplasma. Vanligvis overføres signaler i cellen indirekte via **sekundære budbringere**. De vanligste sekundære budbringere i plantene er syklisk er 3'-5' syklisk GMP (cGMP), inositol 1,4,5,-trifosfat (IP<sub>3</sub>), 1,2-diacylglycerol (DAG) og kalsium (Ca<sup>2+</sup>). Binding av hormoner til receptorer på celleoverflatene gir en kjede av hendelser som leder til kortlevede sekundære budbringere. Syklisk AMP (cAMP) spiller ikke samme viktige rolle i planter som i dyr, sammenlignet med syklisk GMP.

## G-proteiner

Receptorproteinene reagerer med GTP-bindende regulatorproteiner kalt **G-proteiner**. Når GTP bindes blir de aktive, og når GTP hydrolyseres til GDP blir de inaktive. G-proteiner inneholder GTPase og virker som molekylære av/på brytere. Egne proteiner styrer avgivelse av GDP fra inaktiv GTPase. Receptorproteinene har G-proteinbindende domener. Både bakteriorhodopsin hos den fotosyntetiserende bakterien *Halobacterium*, rhodopsin i øyet hos vertebrater og luktreseptorer er eksempler på receptorproteiner med 7 hydrofobe transmembranløkker med α-helix, den N-terminale delen på utsiden og C-terminal på innsiden av membranen. G-proteiner består av 3 subenheter α, β og γ. I inaktiv form er GDP bundet til α-subenheten til G-proteinet, og når G-proteinet bindes til receptor-ligandkomplekset byttes GDP med GTP og G-proteinet blir aktivt. α-subenheten frigis fra G-proteinet og binder seg til **guanylat sykklase** som aktiverer syntese av syklisk GMP (cGMP). Vanligvis er nivået av cGMP lavt i cellen katalysert av **syklisk GMP fosfodierase** som hydrolyserer cGMP til 5'-GMP. Lignene kan skje for cAMP.

## Kalsiumkanaler og inositoler

Konsentrasjonen av kalsium (Ca<sup>2+</sup>) er vanligvis lav i cellen, men ved åpning av **Ca<sup>2+</sup> kanaler** kan konsentrasjonen plutselig øke ved binding av inositol 1,4,5-trifosfat (IP<sub>3</sub>) eller syklisk ADP-ribose. Når IP<sub>3</sub> bindes til kalsiumkanalreceptoren åpner denne og tømmer reservoirene med Ca<sup>2+</sup> i endoplasmatisk retikulum og vakuoler ut i cytoplasma. Det finnes 3 hovedtyper kalsiumkanaler:

- 1) Spenningsregulerte Ca<sup>2+</sup>-kanaler.
- 2) Receptor/sekundær budbringer Ca<sup>2+</sup>-kanaler. Reguleres av IP<sub>3</sub>.
- 3) Strekkfølsomme Ca<sup>2+</sup>-kanaler som responderer på berøring, vind, turgor.

Lagrene for Ca<sup>2+</sup> befinner seg i cellevegg, vakuole, endoplasmatisk retikulum, men

lagere kan også finnes i kloroplaster, mitokondrier og cellekjerne.  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase pumper  $\text{Ca}^{2+}$  ut i lagrene, og de tømmes via  $\text{Ca}^{2+}$ -kanalene. Det kan være mM konsentrasjoner av  $\text{Ca}^{2+}$  i lagrene, mens det i cytoplasma kan være en hvilkekonsentrasjon av  $\text{Ca}^{2+}$  opptil  $200 \text{ nM} = 0.2 \mu\text{M}$ . Vi kjenner til fra vår hverdag at en svitsj kan brukes til å skru på forskjellige ting. Ved fjernkontrollen kan vi skru av/på video, radio, TV og DVD-spiller ved å trykke på litt forskjellige knapper. Både den romlige utbredelse og varigheten av kalsiumsignalet kan påvirke hvor spesifikt signalet er. Det finnes flere calmodulinbindende proteiner. Noen protein kinaser kan aktiveres av et kompleks av kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) bundet til proteinet **calmodulin**. Konformasjonsendringen som skjer når  $\text{Ca}^{2+}$  bindes aktiverer  **$\text{Ca}^{2+}$ -calmodulin avhengige protein kinaser** som fosforylerer aminosyrene serin og threonin på enzymer påvirker enzymaktiviteten. Calmodulin har 4  $\text{Ca}^{2+}$ -bindende løkker, 12 aminosyrer i hver løkke med mye aspartat og glutamat. Ved binding av  $\text{Ca}^{2+}$  endres strukturen til calmodulin slik at hydrofobe områder av proteinet blir eksponert. Andre eksempler på  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulinbindende proteiner er  $\text{NAD}^+$ kinase, glutamat dekarboksylase,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase, kinesin og myosin V.

Grønt fluorescerende protein (aequorin) er et  $\text{Ca}^{2+}$ -følsomt luminiserende protein fra maneten *Aequorea victoria*. Protein består av to deler, et apoaequorin og en hydrofob coelenterazin som luminiserer. Binding av  $\text{Ca}^{2+}$  til aequorin gir en konformasjonsendring i protein som gir oksidasjon av coelenterazin og utsendelse av lys. Aequorin er mye brukt for å studere endringer i kalsiumnivå i celler. Det samme gjelder kalsiumfluorescerende stoffer som fura-2, indo-1 og fluo-3. I lukkeceller i spalteåpninger kan man observere oscillasjoner av  $\text{Ca}^{2+}$ . Effekter av blått og rødt lys, vind, temperatur, anaerobe forhold, ABA, vind, såring, oksidativt stress og elicitorer gir endringer av  $\text{Ca}^{2+}$ -konsentrasjoner i cytoplasma.  $\text{Ca}^{2+}$  styrer også orienteringen av spissen av pollenslanger og i rotspisser.

Inositoltrifosfat er en budbringer som frigis fra plasmamembranen som respons på et hormonsignal og aktiverer protein kinase i cytoplasma. Hormoner og sekundære budbringere er en integert del av signalkjede og overføring fra ytre miljøbetingelser og respons på cellulært nivå.

*myo*-inositol er et viktig mellomprodukt i plantenes metabolisme. Inositolheksafosfat er et viktig lager for fosfat i frø. I membranen finnes lipider som inneholder inositol. Galaktinol lages fra UDP-galaktose og inositol og er utgangspunktet for å lage raffinosesukker i platene.

Fosfatidylinositol er et fosfolipid i plasmamembranen som kan fosforyleres to ganger ved hjelp av ATP katalysert av kinaser slik at det dannes fosfatidylinositol 4,5-bisfosfat ( $\text{PIP}_2$ ). Når fosfatidylinositol 4,5-bisfosfat spaltes av fosfolipase C dannes inositol 1,4,5-trifosfat ( $\text{IP}_3$ ) og diacylglycerol (DAG). DAG aktiverer protein kinase C og  $\text{IP}_3$  gjør at kalsiumkanalene i endoplasmatisk retikulum og tonoplast åpnes. Prosessen slutter ved at  $\text{IP}_3$  brytes ned av en fosfatase. Kalsiumsignalet beveger seg som en oscillerende bølge gjennom cytosol.  $\text{PIP}_2$  kan binde seg til proteiner som deltar i organiseringen av mikrofilamenter.

Sekvenseringsdata fra *Arabidopsis* antyder at planter har en stor familie med

**receptor lignende protein kinaser.** Eksempler på slike er **S-receptor protein kinase** som deltar i utskillelsen av glykoproteiner i forbindelse med selvinkompatibilitet i *Brassica*.

Oligasakkariner, celleveggfragmenter virker også som elisitorer. Bakterielle lipooligosakkarider er viktige signalmolekyler i induksjonen av nitrogenfikserende symbiose med erteplanter.

## Markørenzymer for organeller og kompartementer

Biokjemiske omsetningsveier er lokalisert til forskjellige organeller og kompartementer. Følgende brukes ofte som markørenzym Mitochondrier (cytokrom c oksidase og azidfølsom ATP ase), plasmamembranen (vanadatfølsom ( $\text{VO}_4^{3-}$ ) ATPase, tonoplast (nitratfølsom ATPase).

## Vekst og utvikling

Dyr og planter har forskjellig overlevelsesstrategi, og strategien endrer seg over tid. Plantenes anatomi og morfologi er tilpasset fotosyntese og næringsopptak. Hos dyr skjer det migrasjon av celler, men hos plantene har cellene fast plassering.

## Frøhvile og knopphvile

Vinteren er en venteperiode for frøet. Hvile i knopper og frø er en naturlig del av livssyklus og sikrer at plantene overlever tørke, kulde eller andre ugunstige vekstbetingelser. Under hvilen er respirasjon og den intermediære metabolismen sterkt redusert.

Hvilen deles i to hovedtyper:

- 1) Eksogen hvile (uekte hvile, dvale, "quiescence") som skyldes begrensede ytre vekstfaktorer som f.eks. dårlig vanntilgang eller ugunstig temperatur.
- 2) Endogen hvile (ekte hvile, "dormancy") som er under kontroll av endogene faktorer inne i planten.

## Frøhvile - hindrer frøene å spire på ugunstig årstid

Rett etter at frø er ferdig utviklet på plantene har det vanligvis liten evne til å spire selv om de ytre spirebetingelsene er gunstige. Frøet er spiretregt, noe som skyldes indre faktorer. Imidlertid finnes det planter hvor frøet spirer umiddelbart etter modning og imbibering hvis temperaturen er velegnet. Fra vårt synspunkt ønsker vi at korn skal være spiretregt for å hindre at kornet begynner å spire i akset hvis høsten er våt og fuktig med mye legde. På den annen side hvis bygg skal brukes til malt for ølbrygging ønsker man at kornet skal spire straks det er høstet. Det finnes også vivipare arter

hvor frøet spirer mens det sitter på morplanten. Disse plantene mangler ofte evnen til å lage abscisinsyre. Deler av frøhvilen består av vanntap og uttørking, samt differensiering og utvikling av embryo, opplagsnæring og frøskall. Flere gener som uttrykkes i den siste fasen av embryoutviklingen i frøet responderer på plantehormonet abscisinsyre. Proteiner i frøet må kunne tåle uttørking og gi beskyttelse mot vanntapet. Det kan være mange grunner til at et frø ikke vil spire rett etter at det er ferdig utviklet på morplanten, og flere av disse kan samvirke:

1) **Mekanisk hvile** skyldes hardt frøskall slik at frøet ikke får nok oksygen og vann før det har gått lang tid. Hardt frøskall kan være nødvendig for at frøet skal holde seg i live i jorda i mange år. Meldestokk har både frø med hardt og mykt skall. De med mykt skall kan spire umiddelbart, de andre kan lagres i jorda i flere år. Frøskallet kan danne en barriere slik at rota ikke kan trenge igjennom selv om vann kommer inn. Frøspiringen kan induseres mekanisk ved å fjerne frøskallet. Under naturlige betingelser i jorda blir frøskallet mykere og tæres vekk av mikroorganismer og tidens tann. Frøskallet kan mykes opp ved å passere fordøyelseskanalen til dyr eller fugl, eller ved at det går igjennom sykluser med frysing og tining. Hardt frøskall er vanlig i rose- og erteblomstfamilien. Andre eksempler er nøtter og steinfukter. Vi kan kunstig få frø med hardt skall til å spire ved å gni dem forsiktig med sandpapir eller la frøene ligge i sterk syre før de sås. Noen frø kan ligge flere timer i 50% svovelsyre og etter nøytralisering være spiredyktige.

2) **Morfologisk hvile** skyldes at embryo ikke er ferdig utviklet og frøet behøver å ettermodnes. Frøet må da være ved en temperatur hvor embryo kan utvikle seg ferdig. Frø ettermodnes i tørr eller våt tilstand avhengig av art. Grunnen til at frø fra ask, bekkeblom og hvitveis ikke vil spire skyldes uferdig embryo. Ligger frøet i jorda et års tid vokser embryo ferdig. Frøene hos liljekonvall, mispel og hagtorn trenger 2 år på å utvikle seg til frøplanter.

3) **Kjemisk hvile** skyldes spiringshemmende forbindelser i frø eller frukt. Frø som ligger inne i frukt vil ikke spire hvis det er spiringshemmende kjemiske forbindelser i fruktkjøttet. Frøskallet kan også inneholde forbindelser som må vaskes vekk før frøet kan spire. Slike spiringshemmende forbindelser er fenoler, koumariner, parasorbinsyre, protoanemonin, umettede laktoner og abscisinsyre.

4) **Fotohvile** hindrer frø å spire hvis ikke riktige lysbetingelser er tilstede. Noen frø trenger lys for å spire og noen få krever mørke. Begraves frøene for dypt kan høyt innhold av karbondioksid og lite oksygen i jorda hindre frøene i å spire. Virkningen av lys på frøspiring skjer via fytokrom.

## Bryting av frøhvile

Frøhvilen brytes ved at frøene utsettes for kjølebehandling ved lav temperatur (0-8 °C) under fuktige betingelser (stratifisering). Oppbevaring av frøene en periode i fryseboksen kan også gi spiring.

## Knopphvile - tilpasning til ugunstige vekstbetingelser

"For når sneen var glidd ned til den store stenen hvor hun og Jakob hadde brukt å ha fjøs og ha kongler både til kjøer og sauer - da tok også de ytterste knopper på trærne til å bli lubne og bristeferdige, det visste hun fra i fjor - og hun så også etter dem hver dag nu - og da, da var den store dagen kommet da Krokhornet skulle få slippe ut, det hadde moren sagt. Det var det hun ventet på. Ikke bare fordi det var så morsomt, men fordi intet gav så sterk melk som de første knopper om våren." Fra Hans Aanrud: Sidsel Sidserk (1903).

## Knopper

Kimknopp består av det apikale meristem. Endeknopp Sideknopp kan akselknopp og ligger i vinkelen mellom oversiden av bladstilk og stengel. Apikal dominans.

Adventivknopper på røtter.

Adventivknopper lages på bladstiklinger av stueplantene *Begonia* og *Sansevieria* eller på bladstilken på stiklinger av *Saint-paulia*. På *Bryophyllum* kan det lages adventivknopper langs bladranden. Yngelknopper finnes hos harerug (*Polygonum viviparum*) og tannrot (*Cardamine bulbifera*)

## Planter og trær i vinterdrakt

Plantene må kunne hankses med vintertørke når jorda er frosset. En av overlevelsestrategiene er derfor å redusere fordampningen. Løtrærne og busker kvitter seg med bladene som ville ha mistet mye vann. Derved reduseres overflaten. Knoppene inneholder anlegg til neste års skudd og lages på ettersommeren i bladhjørner. Ikke nok med det, skuddanleggene som skal komme året etter der igjen har også fått sin plass. Knoppene står plassert på samme måte som bladene. Knoppen er dekket av **knoppskjell** med tykk kutikula. Bark på stamme og greiner med korkporer. Knoppen og barken er bare til en viss grad isolerende. En kald vinterdag finnes det is både i stamme, greiner og knopper, men det viktige poenget er at isen ikke dannes inne i cellene, bare på utsiden og i intercellularrom.

**Endeknopper** i spissen av skuddet og **sideknopper** sitter på siden av lengdeaksen. I noen tilfeller kan endeknoppen egentlig være en sideknopp som tar over plassen til en endeknopp som dør (alm og lin). Vanligvis lages det bare en knopp i et bladhjørne. Leddved, slåpe og hyll kan ha flere. Knoppene deles inn i:

- 1) **Løvknopper** som inneholder bladanlegg.
- 2) **Blomsterknopper** som inneholder blomsteranlegg og er vanligvis større enn løvknoppene.
- 3) **Blandete knopper** som inneholder både blad- og blomsteranlegg f.eks. endeknoppen hos hestekastanje og spisslønn. Osp, alm og selje som blomstrer på bar kvist har blomsterknopper som er større og mer runde enn løvknoppene. Hos bjerk overvintrer blomstene som en rakle.

Knoppene kan plasseres

- 1) To og to motsatt som hos ask, lønn og hyll.
- 2) Spredt avvekslende i to rader (alm og lin).
- 3) Spredt i skrue.

Under knoppene er det **bladarr** med rester etter ledningsstrengene (karstrenger). Under knoppen kan greina ha svulmet opp i en **knoppote**.

Knoppkjellene kan være taksteinlagt. Hos hestekastanje er knoppkjellene klebet sammen med harpiks.

Vier har bare 1 knoppkjell, or har 2 knoppkjell, hver et akselblad.

Lind har 2-3 knoppkjell og innover svarer disse til bladfot og bladplate. Et blad består av bladfot, bladstilk og bladplate. Gran og furu kan ha nærmere 100 knoppkjell.

Knoppkjellene beskytter skuddanlegget. Knoppkjellene vokser fra grunnen av når knoppen svulmer opp. De indre knoppkjellene strekker seg mest. Hos syrin (*Syringa*) er knoppkjellet bladplaten.

Når knoppkjellene faller av danner de tynne tverrstreker. Det er ofte flere knoppkjell sammen og disse gir knoppspor.

Når dagene blir kortere utover sommeren anlegges det knopper i bladhjørnene hos flerårige busker og trær. Mange planter har hvileknopper like under jordoverflaten. Knoppene inneholder blad- eller blomsteranlegg, ofte omgitt av et bomullsaktig isolerende materiale. Knoppene kan være dekket av ett eller flere knoppkjell med et ytre vokslag. Fargen på knoppene kan være mørk slik at de kan motta mest mulig stråling. Det er bladene som registrerer at dagene blir kortere, et signal om vekstavslutning og start på herdingsprosessen. Plantene responderer også på at temperaturen blir lavere. I tillegg kan planten ha indre årsrytmer. Både daglengden og solhøyden varierer med breddegraden. I vårt langstrakte land vil de nordlige breddegradene ha lav solhøyde om sommeren. Ved sommersolverv er sola over horisonten 24 timer i døgnet nord for polarsirkelen. Om vinteren er det motsatt. For de fleste trær og busker er det en bestemt daglengde (nattlengde) som gir signal om at det skal lages vinterknopper og veksten skal avsluttes. Jo høyere breddegrad og høyde over lavet desto lenger er daglengden som gir signal om at veksten for dette året skal avsluttes og herdingen starte. Det finnes forskjellige klimaraser (provenienser, økolyper) som er tilpasset daglengdeforholdene på voksestedet. Et grantre i midt-Norge vil gå inn i vekstavslutning når dagen blir kortere enn 21 timer, mens et grantre på Østlandet vil gjøre tilsvarende når daglengden blir kortere enn 19 timer. I mellom-Europa skjer det samme ved daglengde på 15 timer. Vannplantene blærerot, tusenblad og andemat kan lage overvintringsknopper (turioner) når daglengden blir kortere. Turionene synker til bunns av vannet om høsten og flyter opp igjen for å danne en ny plante neste vår. Hele prosessen er styrt av hormoner. Endogen hvile i knopper kan ha samme årsaker som i frø: hemmende kjemiske forbindelser, harde knoppkjell som hindrer lufttilgang, morfologisk utviklingstrinn, og hormonbalanse.

## Bryting av knopphvile

*"Det damper av jorden, og mange steds i retning av dalen ser en store røksøiler stige op og legge sig som en blålig dis utover i den stille luft. De har nok begynt med bråtebrenning nu, de er ferdige med våronnen. Sølve står lenet mot den brunstekte veggen med hendene i bukselommen, myser mot solen, og følger skjærene opp i treet. Han ser at mange av de pinner de bringer, er brent i den ene ende. De henter dem nok borte ved bråtebranden, de blir liggende igjen så passelig lange og høvelige i en rund ring rundt en slik avbrent kvisthaug, og så blir de så harde og tørre, råtner ikke så lett." Fra Hans Aanrud: Sølve Solfeng*

Utover høsten og vinteren går knoppene inn i dypere hvile. For å bryte hvilen må knoppene utsettes for dager eller måneder med lav temperatur. Temperatur fra 0 til 8 °C er effektivt, og frost er egentlig ikke nødvendig. Under hvilen skjer det en endring i mengdeforholdet mellom hormoner. Epletrær trenger 1000-1400 timer ved 7 ° C for å bryte hvilen. Hvor langt sør det går an å drive frukt dyrking er avhengig av om det er kalde nok vintre. Etterhvert vil knoppene gå over i eksogen hvile. Dette betyr at knoppene kan bryte hvis de ytre omgivelsesfaktorene temperatur, lys og fuktighet er gunstige. Dette er tidspunktet for å drive frem bjerkeløv inne. Hadde vi forsøkt det samme når bjerkeknoppene var i hvile før juletider ville vi ikke fått et grønt blad. Lange dager som etterfølger en periode med lav temperaturen gir signal til start av ny vekstsesong. For de artene som blomstrer tidlig om våren som hassel, osp, alm og or vil blomsterknoppene starte å vokse ved lavere temperatur enn de knoppene som inneholder bladanleggene.

## Frøspiring

Frøet er omgitt av et beskyttende frøskall og embryo inneholder strukturene til den ferdige planten. Frøspiringen starter med vannopptak i frøet kalt **imbibering**. Indre overflater i frøet virker sterkt hygroskopisk (lavt matrikspotensial) og trekker til seg vann fra omgivelsene. Den første veksten av frøplanten (kimplanten) er heterotrof. Først vokser kimrota ut av frøet og deretter skuddet beskyttet i form av en apikal krok eller dekket av en koleoptile. I fettfrø omdannes fett til sukker. Fettsyrene spaltes av fra fett katalysert av **lipase**. Fettsyrene fraktes til glykoxysomene hvor de i **β-oksidasjonen** brytes ned til acetyl-CoA. I glykoxylatsyklus omdannes to molekyler acetyl-CoA til succinat, som deretter fraktes til mitokondriene og blir metabolisert i deler av trikarboksylsyresyklus. Sukker lages deretter i glukoneogenesen og fraktes til den unge kimplanten. I grasfrø lages og utskilles hydrolyttiske enzymer fra aleuronlaget og skutellum. Nysyntese av enzymer trenger utvikling av endoplasmatisk retikulum i aleuronlagcellene og er også avhengig av gibberelliner som kommer fra embryo. Minst 4 forskjellige **α-amylaser** produseres av aleuronlaget. **β-glukanaser** bryter ned celleveggene i endospermcellene og deretter kan amylasene bryte ned stivelse til enkle karbohydrater som fraktes via skutellum til den unge kimplanten. Proteaser og peptidase bryter ned lagringsproteiner til aminosyrer og dipeptider som fraktes samme vei. **Endopeptidaser** er f.eks. aspartat protease, serin protease og



cystein protease. **Eksopeptidaser** er f.eks. karboksypeptidase, aminopeptidase og dipeptidase. Fytat brytes ned av **fyttase**. Erter og bønner er to eksempler på frø som lagrer opplagsnæringen i frøbladene, de to halvdelene dekket av frøskallet. Erter har hypogeisk spiring, det vil si at frøbladene forblir ved jordoverflaten. Bønner har epigeisk spiring, det vil si grønne frøblad løftes opp med stengelen over jorda.

Et frø er et modent frøemne som avkastes fra foreldreplanten og består av et embryo og opplagsnæring omgitt av et frøskall. Frøspiringen består av imbibering av vann, aktivering av enzymsystemer, metabolisme av lagringsprodukter og påfølgende transport og syntese av nye materialer og vekst av rot og skudd. Vannpotensialet i frø kan være -100 MPa som skyldes lavt matirkepotensial forårsaket av cellevegger, stivelse, protein. Dette gir et raskt vannopptak. Det skjer en rask økning i respirasjonen like etter imbibering. I den første fasen er det bare vann og oksygen som tas opp av frøet. Hoveddelen av lagringsstoffer i frøet er stivelse, fett, protein, polyfosfater. Stivelse brytes ned av  $\alpha$  og  $\beta$ -amylaser. Tørt frø inneholder vesentlig  $\beta$ -amylase.  $\alpha$ -amylase omdanner stivelse til forskjellige sukker, maltose og glukose, mens  $\beta$ -amylase lager maltose og dekstriner fra den ikke-reduserende enden av stivelse. Fett lagres i fettlegemer (spherosomer). Lipaser spalter fett og fettsyrene omdannes via  $\beta$ -oksidasjonen til acetyl-CoA, som går inn i trikarboksylsyrecyklus. Fettsyrene kan også brytes ned via  $\alpha$ -oksidasjon som peroksidativt dekarboksylerer fettsyrene og danner  $\text{CO}_2$ . De langkjedete aldehydene som dannes oksideres til syre vha. NAD. Lipoxydase spiller også en rolle ved fettsyreoksidasjonen ved å bryte dem ned til mindre biter.

Proteinet i frø finnes lagret vesentlig i proteinlegemer. Brytes ned av proteinaser, peptidaser. Peptidasene kalles inn i endopeptidaser, exopeptidaser, karboxypeptidaser og aminopeptidaser avhengig av hvor de angriper proteinmolekylet.

Forfrø finnes lagret i nukleinsyrer, fosfolipider, fosfatestere av sukker, nukleotider og fytin. Fytin kun utgjøre opptil 80 % av det totale fosforlageret i frøet, og fosfat frigis vha. fytase.

Noen frø er kuldetolerant og vil spire ved så lav temperatur som  $4^\circ$ , men vil også spire ved høyere temperatur (broccoli, gulrot, kål). Varmekrevende frø vil ikke spire ved temperatyrer mellom  $10$  og  $15^\circ$  (tomat, bønner, sorghum, eggplant, agurk).

Visse frø trenger lys for å spire.

## Spiredyktighet og levetid for frø

Frø beholder spireevnen best hvis de lagres kaldt og tørt. Frø bør tørkes til et vanninnhold lavere enn 5 % og plasseres lufttett og dypfryst ved ca.  $-20^\circ\text{C}$ . Tørt frø virker sterkt hygroskopisk og trekker til seg fuktighet fra omgivelsene slik at frøet må oppbevares i gasstette beholdere f.eks. glassflasker. Hvor lenge frøene holder seg spiredyktige varierer, men de fleste mister spireevnen raskt hvis de lagres fuktig og varmt. Frø kan ligge i jorda 20-40 år og være spiredyktige. Det er en frøbank i jorda - et reservoir med frø. Hvor lenge frø kan ligge og være spiredyktige avhenger av predasjon, lys, temperatur, vann, sykdommer, mekaniske og kjemiske forhold og brann. Fra erteblomstfamilien er det kjent at 100-200 år gamle frø kan spire. I myrer i

Danmark er det funnet frø av meldestokk (*Chenopodium album*) og linbendel (*Spergula arvensis*) som er spiredyktige etter 1700 år. Frø fra lotusblomsten (*Nelumbium nuciferum*) kan være spiredyktig etter 2000 år. Rekorden innehas av en arktisk lupin (*Lupinus arcticus*) som har beholdt spireevnen i over 10.000 oppbevart i permafrosten i arktisk tundra. I den Nordiska Genbanken - Alnarp, lagres frø fra planter brukt i land- og hagebruk i Norden. Frø ligger også lagret i permafrosten i gruve 3 "Frøys hall" på Svalbard.

Litteratur:

Porsild, A.E., Harington, C.R. & Mulligan, G.A.: *Lupinus arcticus* Wats. Grown from seeds of Pleistocene age. Science 15 (1967)113-114.

## Opplagsnæring i frø (frølagringsproteiner, stivelse og fett)

Mange planter overlever ugunstige årstider som frø. Frøet har lavt vanninnhold og tåler godt frost og tørke. Frøet inneholder embryo dannet ved befruktning av eggcellen. Embryo er en liten plante i miniatyr med rot og skuddanlegg og frøet er dekket av et frøskall. Størrelsen på frø varierer med arten, fra knapt synlige til Cocode-mér fra Seychellepalme som den andre ytterlighet. I tillegg inneholder frøet opplagsnæring i form av protein, stivelse og fett, enten lagret i en frøhvite (endosperm) eller i kimbladene. Fett er en særlig kompakt form for lagring av energi. Stivelse ligger lagret i små eller store stivelseskorn.

Frølagringsproteinene kodes av flere forskjellige multigenfamilier som uttrykkes bare i kort tid av livssyklus i frøblad eller endosperm. Frølagringsproteinene hos tofrøbladete kalles **globuliner** og er uløselige i vann, men løselige i konsentrerte saltløsninger.

Korn inneholder **prolaminer** som uløselig i vann og saltløsninger, men løselig i alkohol (70 %- 100 %) eller i vann tilsatt detergenter. Frølagringsproteinene er rike på aminosyrene arginin, glutamin, glutamat og asparagin. Frølagringsproteinene får ofte navn etter arten. Glycininer fra soyabønne (*Glycine max*), zeiner fra mais (*Zea mays*) og phaseoliner fra bønner (*Phaseolus*). Frølagringsproteinene syntetiseres på grynet endoplasmatiske retikulum og lagres i proteinlegemer. Frølagringsproteinene inneholder en signalsekvens slik at de transporteres inn i endoplasmatiske retikulum. Signalsekvensen spaltes av under transporten. Proteinene glykosyleres i endoplasmatiske retikulum og de blir videre modifisert i Golgiapparatet. Proteinene transporteres deretter til tonoplasten og utskilles i vakuoler eller akkumuleres i vesikler. Proteinlegemene inneholder lagringsproteinene i krystallisert struktur. Det finnes f.eks. mer enn 20 forskjellige zein proteiner kodet av 65 forskjellige gener hos mais. Noen fenotyper er *opaque* som skyldes redusert avsetning av frølagringsproteiner i aleuronlaget. Zein har lite lysin og tryptofan, men *opaque* har mer av disse, det skyldes redusert zein-syntese, slik at forholdsvis mer vanlige proteiner som har mer normalt innhold av lysin og tryptofan. Opaque-2 gir represjon av 22kDa zeiner mens opaque-7 og flowery-2 reduserer totalt zein-innhold. Opaque-2 koder for en leucin zipper transkripsjonsfaktor, O2 proteinet fra opaque 2 binder seg til til promoter regionen til 22kDa zeingenet.

**Lektiner** er glykoproteiner som lagres sammen med frøproteinene.

Granfrø inneholder mye fett og er attraktiv mat i vinterhalvåret for ekorn, mus, spetter, og korsnebb. Hasselnøtter som også inneholder mye fett samles av mus, nøtteskrike og nøttekråke.

Alle har sin metode for å få tak i frøene. Spettene setter kongla i ei "spettesmie" og hakker ut frøene. Ekornet biter av kongleskjellene for å få tak i frøene og grankongla får et rufsete utseende. Korsnebben kløyver kongleskjellet med nebbet. Musa gir med sine små gnag en mer renspest kongle enn det ekornet lager. Hasselnøtta har to flatsider. Midt på flatsidene går det en grunn fure som deler nøtta i to halvdel. Enkelte ganger blir det "filipine" dvs. to kjerner i nøtta. Oprinnelig er det to frøemner, men det er vanligvis bare ett som utvikler seg. Når begge vokser kan man spille "filipine". Når ekorn, nøttekråke eller spette skal åpne nøtta eller når kimrota skal finne vei ut av nøtteskallet så skjer dette i en sone av nøtta som er svak og sprekker lett opp. Dette skjer på midten av de flate langsidene. Unge ekorn prøver seg på alle kantene før de finner den rette teknikken.

## Når korn spirer

Form og innhold ti frø varierer mye fra kokoksnøtter til valmuefrø. Nisten eller opplagsnæringen i frøet er stivelse, fett og proteiner. Hvor mye det er av hver varierer med frøtypen. Som et eksempel kan vi se hva som skjer når korn spirer. Kornet er egentlig enskallfrukt hvor fruktveggen er vokst sammen med frøskallet. For å kunne spire er kornet avhengig av vann. De tørre celleveggene, stivelse og protein i kornet virker ved et negativt matrikspotensial og trekker til seg vann fra omgivelsene. Det samme som skjer når tørre aviser i fuktige støvler trekker til seg vann, eller når vann tilsettes innholdet av en suppepose. Også dødt frø vil swelle og ta opp vann, men det skjer ingen videre vekst. Med et termometer kan vi måle en liten temperaturstigning under vannopptaket uavhengig av om frøet er levende eller ikke. Vannmolekylene er stadig i bevegelse, men når de bindes til celleveggene må de holde seg mer i ro. Den bevegelsesenergien de hadde må frigis som varme. Kornet sweller (imbiberes) og når fuktigheten i frøet blir høy nok starter spiringen forutsatt at temperaturen er gunstig. Kornet trenger også oksygen fra lufta. Hvis det er for lite oksygen starter etanolgjæring. Et godt eksempel er erter som blir liggende i vann. Frø fra dunkjevle vil derimot spire best i et vannrikt område.

Inne i kornet ligger en hvilende miniatyrplante, embryo, med ferdige skudd- og rotanlegg. Den unge miniplanten er omgitt av et "spiskammer" med stivelse, protein, lipider og mineraler. Stivelsen ligger i små og store stivelseskorn omgitt av protein og døde cellevegger. Dette utgjør frøhviten (endospermen) i kornet. Rundt kornet like under overflaten ligger to til tre cellelag med levende celler (aleuronalag) som dekker frøhviten. Den lille kimplanten starter med å lage plantehormonet gibberellinsyre i embryo. Gibberellinsyre vekker opp cellene i aleuronlag og skutellum og får disse til å lage hydrolytiske enzymer. De første enzymene,  **$\beta$ -glukanase**, bryter ned celleveggene slik at  $\alpha$ -amylase og  $\beta$ -amylase og andre enzymer som tar hånd og deler opp stivelse og protein slipper frem. Næringen suges opp til planten via et

skjoldformet blad (skutellum) som antas å være evolusjonære rester av det andre frøbladet. Røttene kommer først ut av kornet og deretter bladet dekket i starten av en beskyttende slire, koleoptile. Kimrota kommer først ut siden den må feste planten til jorda og ha mulighet til å ta opp vann og mineralsalter.

Det finnes mange forskjellige  $\beta$ -glukanaser bl.a. endo-1,4- $\beta$ -glukanase. Noen av disse bryter ned xyloglukaner og deltar i auxinindusert vekst av celler.

## Grønmalt - utgangsmateriale for ølbrygging

Byggkornene legges først i vann i et støpekar. Vannet skiftes med jevne mellomrom i løpet av de to døgnene støpingen varer. I gamle dager tilsvarte dette å legge sekken med bygg et par dager i bekken. Når vanninnholdet i kornet har blitt høyt nok legges det til spiring i spirekasser eller spiretromler. Tilførsel av fuktighet skjer ved å dusje kornet. Etter syv dager har man det ferdig spirte kornet som nå kalles grønsmalt. Stivelsen i kornet er brutt ned til sukker som kan utnyttas av ølgjæren. Grønsmaltet tørkes i kjøllen. Under tørkingen reagerer noe av sukkeret med aminosyrer til et brunfarget stoff. Den samme brunfargen får vi på bakeverk ved å smøre på egg eller melk før steking. Hvordan tørkingen skjer vil påvirke fargen på det ferdige ølet. Smaker vi på maltet fra kjøllen smaker det søtt og godt. Det kan nå brukes videre i bryggeprosessen.

Når vi maler mel av kornet fjernes kimen, den lille planten i kornet. Den inneholder fett som reduserer lagringstiden på melet. I tillegg fjernes frøskallet og de ytre levende cellelagene rundt kornet. Dette selges som kli. Plantecellenes vegger inneholder mye cellulose. Dette forkorter oppholdstiden for maten i vår tarm og er således ernæringsmessig gunstig. Kli inneholder spesielt mye cellulose.

## Plantekroppen

### Celler og oppbygning av planten

Plantene er bygget opp av millioner av celler med spesialisert funksjon. Det er tre vevsystemer: hudvev, grunnvev og vaskulært vev.

### Meristemer: primær og sekundær vekst

Plantene vokser mot ressursene lys, vann og mineralnæring, men cellene er ubevegelige, bortsett fra noen reproduktive celler. Plantene taper kontinuerlig vann, og forflytter vann og mineralnæring fra jorda til alle deler av planten. Celledeling skjer i **meristemer**. **Apikale meristemer** i spissen av skudd og røtter gir nye celler og **primær vekst**. Ifølge celleteorien utviklet av Schwann, Schleiden og Virchow består alle levende organismer av en eller flere celler, og cellene lager plantekroppen. Ved stengelnodier er det akselknopper med apikalt meristem som gir greining av skuddet. Siderøtter dannes fra et indre meristematisk vev i røttene kalt **pericykel**.

Organismeteorien for planter sier at plantene lager celler og celler fyller alle tilgjengelige rom i planten. Cytoplasma i cellene er koblet sammen i en kontinuerlig fase via **plasmodesmata**. Gras vokser fra **interkalære meristemer** i nodiene langs stengelen. Det er to typer frøplanter: Gymnospermene (nakenfrøete) ca. 700 arter og angiospermene (dekkfrøete) ca. 275.000 arter. Hos tofrøbladete angiospermer og gymnospermer skjer det tykkelsesvekst via **laterale meristemer**, kalt kambier, som gir **sekundær vekst**. **Vaskulært kambium** (fl.t. kambia) gir sekundært ledningsvev (sekundært xylem og floem) og **korkkambium** gir korkhud (periderm). De tre delene fra meristemet: **protoderm**, **grunnmeristem** og **prokambium** differensieres til henholdsvis hudvev, grunnvev og ledningsvev. Overlappende med delingssonen er det en strekningssone hvor cellene spesialiseres og vokser i lengde og bredde. Enfrøbladete planter har ikke lateral kambievekst og mange av dem er således urtaktige. Palmer og treliljer har imidlertid et **primært tykkelsesmeristem** i skuddspissen like under bladfestene. Rothår, pollenslanger, bregne- og moseprotonema og algeceller vokser ved **spissvekst**, styrt av gradienter av kalsium.

Hos dyr kan embryonale celler uten cellevegg forflytte seg og gi opphav til forskjellige vev og organer. Hos plantene hindrer celleveggen en slik forflytning av celler.

## Cellevegg – et endoskjelett

Alle planter er bygget opp av celler. Plantecellene er omgitt av en fast vegg bestående av cellulose, hemicellulose, pektin og protein. Celleveggen danner en strukturell forsterkning og gir mekanisk styrke. Cellene er omgitt av en tynn sterk **primærvegg**, og i vedvev og styrkevev kan det også dannes en tykkere **sekundærvegg** med **lignin** som avsettes når cellen har vokst ferdig. Tykkelsen av **primærvegg** er ca. 100 nanometer (nm), mens tykkelsen av veggene i sklerenkym, fibre og xylem kan være opptil 1000 nm. Ytterveggene av epidermis er tykkere enn resten og inneholder ikke plasmodesmata. **Sekundærvegger** dannes etter at cellen har vokst, og anlegges mellom primærveggen og plasmamembranen. Porer og porefelt blir ikke dekket av sekundærvegg. I xylem er det veggfortykkelser som motstår tensjon. Celleveggene i planter utnyttes industrielt til å lage papir, plantefiber (bomull, lin), syntetiske fibre (rayon) og plastikk. Cellene er ikke lukkede bokser, siden det er åpninger mellom dem i form av primære og sekundære **plasmodesmata** som gjør at planten inneholder et sammenhengende cytoplasma som går gjennom omtrent helt planten. **Midtlamellen** med høy innhold av pektin virker som et lim mellom celleveggene. Celleveggen består av et matriks av polysakkariderr bygget opp av mikrofibriller med **cellulose**, glukose bundet sammen i  $\beta$ -1,4-bindinger. Veggen inneholder også **hemicellulose** (xyloglykan, xylan, glukomannan, galaktan, arabinan) som binder sammen cellulosefibrillene. Kallose er et  $\beta$ -1,3-glukan. Primærveggen, og spesielt midtlamellen inneholder mye pektin som binder vann og danner en hydrert gelfase. Pektin består av homogalaktouronan og rhamnogalaktouronan. Primærveggene kan inneholde 70-80% vann, mens sekundærveggen hos bomull inneholder 90% cellulose og lite vann.

Celleveggen gir mekanisk styrke, regulerer cellevolum, celleform og beskytter

protoplasten. I området mellom to celler er det en **midtlamell** med høyt innhold med pektin som sementerer cellene sammen. Celleveggen var det opprinnelige skjelett for planter som ble tilpasset et liv på land. Veggen gir mulighet for å lage et turgortrykk i cellen og gir beskyttelse mot sykdomsfremkallende organismer. Veggen bestemmer også retningen for celleveksten. Innenfor celleveggen er det alltid en membran, plasmamembranen (plasmalemma) som omgir celleinnholdet.

Primærveggen består av cellulosefibriller (ca.25%) i et vannfylt matrisk med pektin (35%), hemicellulose (25%) og strukturprotein (2-5%). Koleoptilen i gras inneholder ca. 65% hemicellulose, 25% cellulose og 10% pektin. Endospermcellevegg kan inneholde 85% hemicellulose.

Celleveggene er bygget opp av **cellulose** som danner **mikrofibriller** i kryssbinding med hemicellulose. Bindingene kan være hydrogenbindinger, ionebindinger sammen med kalsium, kovalente bindinger, esterbindinger, acetylering eller van der Waals binding. Enzymet cellulose syntase i plasmamembranen består av seks subenheter som danner rosetter i membranen. Cellulose syntase A (CesA) kodes av en multigenfamilie, og det finnes cellulose syntase lik gener (*Cs*). UDP-glukose laget fra sukrose og sukrose syntase brukes for å lage cellulose.

En cellulosemikrofibrill er en polymer av fra 2000-25000 D-glukose fra UDP-glukose bundet sammen med  $\beta$ -1,4-bindinger, 6-50 kjeder per mikrofibrill. Cellulose syntase sitter som rosetter på plasmamembranen. Påleiringen av cellulosefibriller er styrt av kortikale mikrotubuli, som gir eller mindre diffus vekst. Spissvekst i rothår eller pollenslanger er styrt av aktin mikrofilamenter. Substrukturer av cellulose er krystallinske. Cellulose har høy strekningsstyrke, er kjemisk stabil og lite løselig. Lukkeceller i spalteåpningene har plassert cellulosefibrillene i veggen på en slik måte at spalten åpner seg når turgortrykket i lukkecellene øker. Orienteringen av cellulose mikrofibriller i primærveggen kan være tilfeldig organisert (isotrop) som gir lik vekst i alle retninger, eller ikke-tilfeldig (anisotrop) organisering som gir retningsbestemt utvidelse av cellen. Kortikale mikrotubuli påvirker orientering og plassering av mikrofibriller i veggen. Multinettveksthypotesen sier at celleveggen lag strekkes og tynnes. Celleveggen dannes fra en **celleplate** mellom to celler som har delt seg. Celleplaten er dannet fra Golgi-vesikler, mikrotubuli og ER cisterner organisert i en **fragmoplast**. Den ordnete strukturen i celleplaten og veggen skjer ved selvaggregering. Celleveggen får en løsere struktur ved lav pH grunnet **ekspansiner** som løser opp celleveggen.

Celleveggfragmenter produsert av sopp eller andre skadelige organismer virker som signalmolekyler (elicitorer) som setter i gang et forsvarsapparat i planten. Cellulose binder det optiske hvitemiddelet Calcofluor, som gir blå fluorescens i fluorescensmikroskop.

**Hemicellulose** er en matrikspolymer som binder seg til cellulose i primærveggen. Hos tofrøbladete planter og en del enfrøbladete er det mest **xyloglukaner** (type I cellevegg). Xyloglukan er lange molekyler (50-500 nm) og kan binde flere cellulosemikrofibriller, 20-40 nm lange. Blant commelinoidene hos enfrøbladene inneholder veggen mest **glukuronarabinoxylaner** (type II cellevegg), som også inneholder relativt lite pektin og protein. I celleplaten under celledeling, i pollenslangene og ved såring av floem lages det **kallose** i celleveggen. I frø brukes karbon i celleveggen som en del av opplagsnæringen. Hos arter i grasfamilien

inneholder veggen mye  $\beta$ -1,3 og 1,4-glukaner ( $\beta$ -glukaner) som spaltes av  $\beta$ -glukanaser. Celleveggen kan være impregnert med kutin, suberin, voks og silisium.

I tillegg inneholder primærveggen og midtlamellen **pektin**. Pektin danner gel i matriks og er en heterogen gruppe polysakkarider med galakturonsyre og nøytrale sukker som rhamnose, galaktose og arabinose (homogalakturonan, rhamnogalakturonan I og II og xylogalakturonan). Kalsiumpektat danner et nettverk og syregruppene kan binde kalsium

Det finnes **protein** i celleveggen med stort innhold av aminosyrene prolin, hydroksyprolin eller glycin (hydroksyprolinrike glykoproteiner (HPRG), glycinrike glykoproteiner (GRP), prolinrike glykoproteiner (PRP) og strukturproteiner som arabinogalaktanproteiner). Ekstensin er en gruppe hydroksyprolinrike proteiner i celleveggen. I tillegg kan det finnes proteoglukaner (arabinogalaktan proteiner).

Hos arter i meldefamilien og blant commelinoider inneholder primærveggen mye **hydroksycinnamater** som ferulinsyre og p-coumarinsyre. Ferulinsyre brukes til krysskobling av celleveggen hos gras i esterbinding til arabinose. Hos noen frø i erteplantefamilien inneholder celleveggen opplagsnæring i form av glukomannaner og galaktomannaner, som de bruker i stedet for stivelse. Noen celletyper lager i tillegg en **sekundærvegg** på innsiden av primærveggen. Fibre og sklereider i styrkevevet har en jevntykk sekundærvegg.

**Trakeider** og **vedrørselementer** som danner vedrør i vedvev (xylem) har ujevne sekundære veggfortykkelser i form av spiraler, ringer eller nett. Hull i sekundærveggen danner **enkle porer** som danner **porepar** med nabocellene. Trakeider er vannledende celler i angiospermer, gymnospermer og karsporeplanter. De evolusjonsmessig mer avanserte vedrørselementer finnes hos angiospermer, gnetofytter og noen bregner. Programmert celledød gjør at xylem ikke har cytoplasma, organeller eller cellemembran, men de har en tykk lignifisert cellevegg. Trakeidene er spisse i begge ender og er overlappende med neste trakeide. Det er porer i lateralveggene og vanntransporten skjer gjennom porepar i trakeidene hvor sekundærveggen mangler. Mellom porene er det en poremembran bestående av primærvegg og midtlamell. Det er bare trakeidene hos bartrær som har en fortykket **linsepore** med en torus (fl.t. tori) som fungerer som en ventil og hindrer kaviteringsbobler å forflytte seg mellom nabotrakeider. Porene opprettholder trykkgradienten. Alle andre planter har bare **poremembran** i vedrør og trakeider, men porene i poremembranen er meget små og hindrer forflytning av kaviteringsbobler. Vedrørselementene er korte og brede med perforerte endevegger med perforasjonsplater og porer i lateralveggen. Lengden på vedrør varierer fra få cm til flere meter, og med åpne endevegger gir vedrørene en effektiv vanntransport.

Sekundærveggen inneholder **lignin**. Lignin gir styrke og er "betongen" i celleveggen, mens cellulosefibriller er "armeringsjernet". Lignin gir en hydrofob cellevegg og dehydrering, hindrer patogen hydrolytisk nedbrytning av veggen og redusert fordøyelighet hos herbivore. Lignin er bygget opp av en polymer av monolignoler, fenypropanoide laget fra fenylalanin og med en til to metoksygrupper. S-lignin fra sinapylalkohol, H-lignin fra p-coumarylalkohol og G-lignin fra coniferylalkohol. Lignin fra gras og palmer inneholder mye p-coumarylalkohol. Lignin fra bartrær inneholder mye coniferylalkohol. Lignin i hardvedsorter inneholder mye coniferylalkohol og sinapylalkohol. Produksjonen av dilignoler er katalysert av



peroksidaser eller laccaser med henholdsvis hydrogenperoksid eller oksygen som substrat.

Celleveggmateriale er anisotropt og er dobbeltbrytende, noe som kan observeres i et polarisasjonsmikroskop. Under modning av frukt bløtgjøres celleveggene ved at pektin brytes ned. Sekundærvegger i frøblad og endosperm er harde, gir mekanisk hvile, beskytter embryo og kan tjene som et lager av karbohydrater i form av mannaner, galaktomannaner. I kornet av bygg (*Hordum vulgare*) og havre (*Avena sativa*) inneholder celleveggen i endospermen  $\beta$ -glukaner, som brytes ned av  $\beta$ -glukanaser under frøspiringen. Celleveggene utgjør en viktig bestanddel i kostfiber. I protoxylem har trakeidene sekundærvegger utformet som ringer som kan følge med strekningen av det omgivende vev. Moser (bryofytter) mangler lignin og et system for langdistansetransport og er derfor små.

*"Da de har fått høiet inn fra den første varme, tørre solbakke, sier Berit at han skal ta til som hampefut. Nu får han vite hvad det er. Han skal passe og stelle med hampen fra den står på åkeren og til han omtrent har den som skjorte på kroppen. Og det tar to år! Den han først får med å gjøre er den fra ifjor. Den blir tatt ut av låven og kjørt bort i solbakken. Der skal han bre den utover bakken, i tynne rader, og ikke ugreie den, sol og vind og regn skal få virke på den, bleke den, gjøre den fædd".." Den er blitt nesten hvit". .."en regnskur er det beste en kan få i hampen." Så lager de "smale ganger i hampeåkeren" og plukker. ...."Det er bare det at hampen er så hård at en blir sår fingret, og lukter så sterkt at en blir ørren". Og når de skal "bråke": I badstuen "blir det fyr i til hampen blir så tørr at det braker i den." Bråken er en "lang stokk med banketrær som er festet i den ene ende". ..."og så banker de så agner driver om dem som en sky"... "Når de har banket ut en neve hamp, holder de en fin dott stry i hånden, og den vrir de sammen til en brugde, og når de har fått tolv, binder de dem sammen til en brigding, ..." "Karene lager soplimer og selepinner og alt annet brukelig av tre,... ..det er stryen de spinner"*

Fra Hans Aanrud: *Sølve Solfeng*

## Galaktomannaner

Galaktomannaner er en type cellulose bygget opp av en polymer av D-mannose med sidegrupper med galaktose. Kaffe, dadler og mange frø i erteblomstfamilien har innerveggen av cellene i endospermen dekket med mannaner. Den tynne ytterveggen er av vanlig struktur, men innerveggen består bare av galaktomannaner og mangler f.eks. cellulose. Galaktomannaner fungerer som et **lagringspolysakkarid** i cellene i stedet for stivelse i stivelseskorn. Xyloglukaner og glukomannaner fungerer på samme måte.

Guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) i erteblomstfamilien brukes til kommersiell produksjon av guar gummi, et mannan som brukes som stabilisator, fortyknings- og emulgeringsmiddel i næringsmiddel- og kosmetikkindustrien. Andre frø med stort innhold av galaktomannaner er *Trigonella foenum-graecum*, som bl.a. inngår i blandingskrydderet karry. Johannesbrød (*Ceratonia siliqua*) og senna (*Cassia senna*) er andre eksempler. 100% mannose er uløselig i vann, men løseligheten øker jo mer

galaktose den inneholder. Forholdet mellom galaktose/mannose er hos *Trigonella* 1:1; *Cyamopsis* 1:2 og *Ceratonia* 1:4. Det betyr at galaktomannan fra *Trigonella* vil være lettest løselig i vann av disse tre. Biosyntesen av galaktomannaner skjer fra glukose-6-fosfat som via mannose-6-fosfat og mannose-1-fosfat omdannes til GDP-mannose som polymeriseres katalysert av membranbundet mannosyl transferase (mannan syntase). D-mannose hektes sammen i  $\beta$ -1,4-bindinger. UDP-galaktose brukes til å hekte på sidegrupper med galaktose. Mengden galaktose avhenger av planteart. Ved spiringen brytes galaktomannaner ned av  $\alpha$ -galaktosidase, endomannanase og mannosid mannohydrolase. Disse enzymene er undersøkt bl.a. i soppen *Aspergillus*.

Fosfomannose isomerase, som kodes av genet *pmi*, kan brukes som seleksjonsmarkør for transformasjon av planteceller. Mannose kan virke toksisk. Celler som vokser på mannose og har fått innsatt markørgenet *pmi* kan omdanne mannose-6-fosfat (som plantene lager fra mannose katalysert av heksokinase) til for planten ugiftig fruktose-6-fosfat.

## Membraner: fosfolipider og protein

Innenfor celleveggen ligger en **plasmamembran (plasmalemma)** bygget opp av fosfolipider og protein, og som danner en biomembran som atskiller det indre av cellen fra det ytre miljø. Den har tykkelse 5-10 nanometer. Hvis vi sammenligner en plantecelle med en fotball er plasmamembranen fotballblæra som hindres i å bryte av den omkringliggende lærkula (celleveggen). Membraner virker som en barriere og gjør det mulig å lage reaksjonsrom i cellen med et annet kjemisk innhold enn resten. Transportproteiner og kanaler sørger for selektiv transport av ioner og molekyler gjennom membranen. Proteiner i plasmamembranen interagerer med cytoskjelettet. Endoplasmatisk retikulum, Golgi-apparatet, endosomer, kjerne- og vakuolemembranen utgjør et endomembransystem i cellen.

Det er vanligvis forskjell i elektrisk potensial mellom de to vannfasene som er atskilt av membranen, og danner et **membranpotensial**. Ifølge den **flytende mosaikkmodell** er membranen bygget opp av **fosfolipider** eller glykosylglycerider (polart hovud med galaktose, digalaktose, eller sulfatert galaktose) i et dobbeltlag (bilag).

Fosfolipider inneholder to hydrofobe fettsyrer kovalent bundet til glycerol og den tredje hydroksylgruppen i glycerol er bundet til en hydrofil fosfatforbindelse.

Fosfolipidmolekylene er **amfipatiske** med polare hoder og hydrofobe fettsyrehaler. Den polare hodegruppen med fosfat er festet til kolin, inositol, serin eller glycerol. I et vannholdig miljø hekter de hydrofobe halene seg sammen spontant.

Det skjer transport over membranene, men den upolare midten av membranen hindrer vannløselige stoffer å diffundere gjennom membranen. I tillegg til fosfolipider inneholder membranen steroler som sitosterol, kamposterol, og stigmasterol med hydrofil hydroksylgruppe. Membranproteiner inngår i membranen i tre hovedtyper:

**Perifere membranproteiner** som kan fjernes lett fra overflaten og er ikke

kovalent bundet til membranen. De er bundet med ione- eller hydrogenbindinger. Perifere proteiner kan fjernes ved å behandle membranene med høy saltkonsentrasjon eller chatropiske midler som bryter hydrogenbindinger.

**Integrerte proteiner** er innleiret i dobbeltlaget med hydrofob kjerne inne i membranen og stikker delvis ut på utsiden av membranen. sitter fast i membranen. Noen reseptorligninene proteiner fester celleveggen til cellemembranen. Integrerte proteiner fungerer bl.a. som ione kanaler og reseptorer i signaloverføring (signaltransduksjon).

**Ankerproteiner** er kovalent bundet til membranoverflaten via lipider, kovalent bundet til myristinsyre (C14) eller palmitinsyre (C16) som kan inngå i amidbinding til aminosyren glycin (fettsyreankret protein). Noen proteiner er festet til fettsyrer, prenylgrupper f.eks. farnesyl- (C15), geranylgeranyl (C20)-ankret protein. Det finnes også glykosyl-, fosfatidyl-, inositol-ankrete protein, samt glykosyl-fosfatidyl/inositol-ankrete proteiner. Sukkerdelen av **glykoproteiner** stikker ut fra membranen. Fett og protein kan danne midlertidige aggregater i membranen kalt **fettklynger**. Fettklyngene består av tettpakkete fettsyrer anriket med sphingolipider (aminoalkoholet sphingosin) og steroler.

Umettede fettsyrer med *cis* C=C dobbeltbindinger gir en knekk eller bøy på fettsyrehalen, noe som gir mindre tett pakking av membranen. Ved **kuldeakklimatisering** skjer det faseoverganger og endringer i det kjemiske innholdet i membranene, hvor mengden fosfolipider øker, mens mengden glukocerebrosider synker. Membranflyten (fluiditeten) er avhengig av temperatur og antall karbon-karbon dobbeltbindinger. Vanlige umettede fettsyrer i plantemembraner er oljesyre (C18:1), linolsyre (C18:2) og linolensyre (C18:3). Antall karbonatomer og dobbeltbindinger er angitt i parentes.

## Vekst av celler

Planteceller vokser ved å løsne på strukturen i celleveggen. Dette skjer bl.a. ved ekspansiner som lager brudd i hydrogenbindingene mellom cellulose og kryssbindende hemicellulose, en prosess hvor også plantehormoet auxin deltar (sur vekst hypotesen). Turgortrykk og drag i mikrotubuli kan bestemme formen på cellen. Veksten kan skje jevnt over hele veggen eller i spissen som hos rothår og pollenslanger. Cellulose lages fra cellulase syntase i plasmamembranen. Cellulose syntase ligger som rosetter i membranen og lager cellulose fra UDP-glukose. Genet som koder for cellulose syntase har sekvenslikhet med et gen hos den celluloseproduserende bakterien *Acetobacter xylinum*. Mikrotubuli som ligger like under plasmamembranen (cortikale mikrotubuli) bestemmer orienteringen av cellulosefibrillene i veggen. Sekretoriske vesikler fra *trans* Golgi nettverket frakter hemicellulose, glykoproteiner, fett og pektin fram til plasmamembranen og celleveggen ved **eksocytose**. N- og O-glykosylering av proteiner i Golgi beskytter mot degradering. Glykosyleringen skjer ved at galaktose eller arabinose fester seg til hydroksylgruppen på aminosyre hydroksyprolin, serin eller threonin.

Plasmamembranen er presset ut mot veggen og hvis det er for mye plasmamembran vil den pga. veggen bule innover og danne en vesikkel som kan avsnøres. Ved **endocytose** føres overskudd av membranmateriale tilbake til cellen i form av vesikler dekket med protein **clathrin** som gir beskjed om hvor de skal i cellen. Når plantecellene deler seg lages det fragmosomer i en **fragmoplast**, og disse inneholder deler av endoplasmatisk retikulum (nettverk) som er med og danner **primære plasmodesmata** som kobler sammen cytoplasma og membraner i to naboceller. Plasmodesmata gjør at hele planten deler en kontinuerlig fase med membraner. På denne måten blir det meste av cytoplasma i planten en sammenhengende fase. Ved plasmolyse av celler kan man observere at det går tynne cytoplasmatråder (Hechttråder, etter Kurt Hecht som oppdaget disse i 1912) fra protoplasten ut til veggen hvor plasmodesmata danner porefelter. Mellom eldre celler kan det også lages cytoplasmforbindelser via sekundære plasmodesmata. Sistnevnte skjer også når man poder en plante på en annen. Celler som skal være vanntette eller bli beskyttet mot infeksjon innsettes med **kutin** eller **suberin** (hydroksyfettsyrer) som danner en tynn hydrofob film. Overhuden (epidermis) på de overjordiske delene av planten er dekket av kutin og voks. Voks er en kompleks blanding av langkjedete estere, alkoholer, aldehyder, ketoner og syrer som beskytter mot uttørring og mot patogene organismer. Cellene i endodermis i røttene og i bladarr etter bladfelling inneholder suberin.

## Sentralvakuole

Inne i cellene er det flere membransystemer og organeller som kan danne egne reaksjonsrom (kompartenter) som isolerer substrater og reaksjoner fra hverandre. **Sentralvakuole** er omgitt av en vakuolemembran, kalt **tonoplast**. Sentralvakuolen øker volumet av cellene slik at de bl.a. kan fange opp mer sollys i kloroplastene uten å tynne ut cytoplasma som ligger mellom plasmamembranen og tonoplast. Derved skyves alle kloroplastene i cytosol ut mot plasmamembranen slik at det blir kort diffusjonsvei for karbondioksid fra gassfylte hulrom i bladet inn til kloroplastene i bladet. Sentralvakuolen kan utgjøre 80-90% av cellevolumet. Det går cytoplasmastrenger gjennom vakuolen omgitt av tonoplast.

Det er flere forskjellige typer vakuoler. Vakuolene har en cellesaft som kan inneholde sukker, polysakkarider, aminosyrer, uorganiske ioner, organiske syrer, lateks, enzymer, oksalsyre, xenobiotika og sekundærmetabolitter (flavonoider, fenoler, alkaloider, cyanogene glykosider, glukosinolater etc).

**Lyttiske sure vakuoler** i aldrende vev inneholder hydrolyttiske enzymer (hydrolaser, proteaser, glukosidaser, nukleaser, lipase) og virker som lysosomer hos dyr. Autofagosomer omgitt av dobbelt membran kan ta opp og fordøye store deler av celleinnholdet.

Flavonoider i vakuolene i epidermis beskytter plantene mot skadelig UV-stråling. Vakuolene fungerer som et lager med vann, protoner ( $H^+$ ) og oppløste stoffer. Vakuolene er vanligvis sure ca. pH 5, noe som skyldes  $H^+$ -ATPase, men det finnes nøytrale vakuoler som lagrer protein i frø. I sitron med høyt innhold av sitronsyre kan pH i vakuolene være pH 2.5. Noen vakuoler lagrer protein, f.eks. proteinlegemer i frø.

I meristemceller starter sentralvakuolen som provakuoler fra *trans*-Golgi. Opptak av

stoffer og vann i vakuolen er en nødvendig forutsetning for cellevekst. Vannopptak i vakuolene bidrar til turgortrykket i cellen. Ved celledeling deles vakuolen.

## Endoplasmatisk retikulum - et dynamisk membran-nettverk

**Endoplasmatisk retikulum (ER)** er dobbeltlag med lipider med protein former som flate eller rørformete sekker (cisterner), og som deltar i proteinsyntese, sortering og glykosyleringer av proteiner. ER er festet til kjernenmembranen, vakuoler, plasmamembranen, mitokondrier og aktin. ER danner et endoplasma i cytoplasma. Det er to hovedtyper ER forbundet med hverandre: glatt ER og rynket ER. Det er mye ER i cellens cortex. **Glatt endoplasmatisk retikulum** danner et rørformet tubulært nettverk og brukes til å lage fosfolipider og oljelegemer, samt sammensetning av membraner. **Grynet endoplasmatisk retikulum** (kornet ER, rynket ER) som finnes nærmest cellekjernen er lamellformet og dekket av ribosomer hvor det skjer proteinsyntese. Det finnes også polysomer på utsiden av kjernemembranen. Nysyntetiserte membranproteiner og sekresjonsproteiner med et signalpeptid blir fraktet inn i lumen på ER hvor de blir videre prosessert. Signalpeptidet som består av 18-30 hydrofobe aminosyrer virker som et signal som leder protein inn i lumen på ER. I lumen kuttes signalpeptidet av, katalysert av en signal peptidase.

Signalgjenkjenningepartikler (SRP) laget av protein og RNA gjør at ribosomene bindes til SRP reseptorprotein på ER, koblet til proteindekkete kanaler, translokoner. SRP kjenner igjen en ER-signalsekvens på 6-12 aminosyrer og plasseres ribosomet over en kanal i ER-membranen, SRP frigis og proteinsyntesen fortsetter.

Kortikal ER ligger nær plasmamembranen og deltar i organiseringen av cellulosefibriller i celleveggen. Perinukleær ER er rørformet og forbundet med kjernemembranen. Under mitosen omorganiseres ER og regulerer spindel og celleplate. I kolumella i rota virker ER gravitasjonsregistrerende. Protein i frø (vannløselig globulin og hydrofobe prolaminer) kommer fra ER. Transvakuoletråder er cytoplasmatråder omgitt av membran som går gjennom vakuolen. Rørformet nettverk kan gå over i cisterneform katalysert av retikuloner. Det er en tosidighet i endomembrane, hvor den hydrofile hodeenden vender ut mot cytosolsiden. Det er indikasjoner på flippase som kan snu lipidene i membranen. Det skjer utbytting av membraner fra organeller og plasmamembranen ved nærkontakt. Både ER og kloroplaster lager egne membraner. De andre lager membraner ved fisjon/fusjon via vesikler og rør merket med gjenkjenningeproteiner SNARE og Rabs. Det finnes mange glykoproteiner i ER, N-acetylglukosamin, mannose eller glukose festet til aspartat eller N-lenket glykan festet til dolicholifosfat. Glykoprotein og polysakkarider fraktes og skilles ut via Golgi.

## Golgiapparat

Tre til ti flate membransekker (cisterner), rør og et nettverk av vesikler og cisterner

kalles et *trans*-Golgi nettverk. Cisterner som ligger nærmest plasmamembranen kalles *trans*-sekresjonssiden. Mediale cisterner er plassert mellom *trans*- og *cis*-cisterner. Intercisternproteiner holder vesikler og cisterner på plass. Det kan være flere enn hundre Golgistabler per celle. Hver stabel kalles et diktyosom eller Golgilegeme. Golgi-vesikler kan bevege seg langs aktin-filamenter via ATP-avhengig myosin motorprotein. Golgi deltar i prosessering av protein og glykoprotein. Stabler av cisterner fra *cis*-siden mottar vesikler og rør fra ER. Sekresjonsstoffer fraktes via vesikler ut fra *trans*-siden. Golgi deltar i oppbygningen av celleplate og cellevegg ved celledeling, og frakter hemicellulose, pektin og hydroksyprolinrike glykoproteiner. Vesikler dekket av **clathrin** deltar i lagring av protein fra Golgi og ved endocytose. Endocytotisk resirkulering via endosomer er retrograd transport av overskudd av plasmamembran, og som bringer løselig protein og cellemembranprotein tilbake til cellen etter å ha tømt innholdet på utsiden av plasmamembranen. Tre typer clathrin er nødvendig for å få vesikler fra plasmamembranen og *trans*-Golgi. Vesikler fra ER kan fraktes til Golgi (anterograd transport) assistert av kappeprotein II (COPII). Fra Golgi til ER fraktes det vesikler assistert av kappeprotein I (COPI). Endocytotiske vesikler fra plasmamembranen går tilbake til cellen ved å fusjonere med prevakuolært kompartiment (PBV) hvor membranreseptorerer resirkuleres. Fra prevakuolært kompartiment kommer vesikler som avgir innholdet til lyttiske vesikler. Lyttiske vakuoler inneholder hydrolyttiske enzymer.

Rothetteceller skiller ut mukopolysakkarider fra slimfylte vesikler som fusjonerer med plasmamembranen. Overskudd av plasmamembranen går tilbake til cellen via endocytose (endocytotisk resirkulering). Spesielle overflateproteiner letter knoppdannelsen i vesikkelproduksjonen.

**Mikrosomer** er membranvesikler fra ER, Golgi, tonoplast og plasmalemma og finnes når plantemateriale homogeniseres i en isoton løsning.

## Plastider

Symbiose er en viktig drivkraft i evolusjonen, en hypotese utviklet av biologen Lynn Margulis. Primær og sekundær **endosymbiose** ga under evolusjonen opphav til **eukaryoter** som inneholdt plastider og mitokondrier med prokaryot opprinnelse. **Plastider** er semiautonome celleorganeller som dannes fra **proplastider**, og kan være i form av kloroplaster med fotosyntese, amyloplaster med stivelse, røde, oransje eller gule kromoplaster, leukoplaster eller etioplaster dannet i mørke. Proplastidene deler seg ved fisjon ved at det dannes en avsnøring på midten. Plastider er forbundet med stromafylte rør som danner et nettverk av plastider (stromuler), utvekster uten thylakoider.

Hos angiospermene nedarves plastidene maternalt via moren, men hos gymnospermene kan nedarvingen skje paternalt fra spermceller. *Pelargonium* er eksempel på en art hvor plastidene nedarves biparentalt, dvs. fra begge foreldrene. Alle plastidene er omgitt av to membraner som har forskjellig gjennomtrengelighet for gasser, molekyler og ioner. Plastidmembranen inneholder glykosylglycerider med enten galaktose, digalaktose, eller sulfatert galaktose, og uten fosfatgruppe.



Alle typer plastider inneholder sirkulært eller lineært **kloroplast DNA** (kpDNA) ca. 120-160 kilobasepar (kbp) med prokaryot opprinnelse og lokalisert til deler av stroma i et matriks kalt nukleoider. Genomet kan også være koblet saman og danne en greinet brus. Kloroplastgenene er ikke-mendelsk nedarving. Kloroplast DNA viser polyploidi, med flere kpDNA per kloroplast, og replikasjonen skjer uavhengig av kjernen. Kloroplast DNA koder for ca. 120 proteiner bl.a. ribosomalt RNA (rRNA, tRNA og den store subenheten til rubisko (LSU)). Mange kloroplastproteiner blir importert fra cytoplasma, styrt av et N-terminalt transitpeptid som virker som et signal. Lys via fytokrom og blåttlysreseptorer regulerer uttrykket av gener i cellekjernen som lager kloroplastprotein.

Frysefraktur kløyver frosne granamembraner som splittes. Halvdelen av membranfrakturen som er nærmest stroma kalles P-side og den som er nærmest lumen kalles E-side.

**Kloroplaster** er plastider som utfører **fotosyntese** i alle grønne plantedeler. Et tredje membransystem danner **thylakoider** med fotosynese pigmenter (klorofyll og karotenoider) i reaksjonssentere og elektrontransportører (kinoner, cytokromer, jern-svovelproteiner, plastocyanin), samt ATPsyntase. Et **granum** (fl.t. grana) er en stabel med thylakoidmembraner og mellom granstablene går det **intergranalameller** (stromathylakoider). Thylakoidmembranene har høyt innhold av galaktolipider og lite fosfolipider. I **stroma** i kloroplastene ligger enzymene i Calvin-syklus som utfører assimilasjonen av karbondioksid. Det kan være fra 1-100 kloroplaster per celle og opptil en halv million kloroplaster per kvadratmillimeter på bladet. Kloroplaster hos rødalger inneholder i tillegg fykobiliproteiner. I kloroplastene skjer det også biosyntese av klorofyll, aminosyrer og fettsyrer. Det finnes også bakterier som kan drive fotosyntese. Den ytre kloroplastmembranen inneholder mye galaktolipid.

**Etioplaster** hos angiospermer er proplastider som har stoppet utviklingen pga. for lite lys. Protoklorofyllid hoper seg derved opp i etioplastmembraner i et semikrystallinsk membransystem (prolamellarlegemer). Kommer det nok lys utvikles etioplastene til kloroplaster. Hos gymnospermer, moser og karsporeplanter kan klorofyll dannes i mørke og slike planter har ikke etioplaster.

**Amyloplaster** inneholder stivelseskorner i stroma og finnes i lagringsorganer i røtter, rotstokker og stengelknoller. Kloroplaster kan lagre stivelse midlertidig. I kolumella i rothetta er det spesielle amyloplaster som virker som **statolitter** som registrerer retningen i forhold til tyngdekraften.

**Leukoplaster** er fargeløse plastider som lager monoterpener i sekretoriske celler og trikomer (kjertelhår). Nylagete terpener er omgitt av glatt endoplasmatiske retikulum. Tidligere er amyloplaster og leukoplaster vært brukt synonymt, men skilles nå ved å lage henholdsvis stivelse og terpener.

**Kromoplaster** inneholder **karotenoider** og gir farge på bl.a. tomater, appelsiner, gulrot, søtpotet og blomster f.eks. smørblomst og løvetann. Kromoplastene inneholder også enzymer for biosyntese av karotenoider lokalisert til membraner. Kloroplaster omdannes til kromoplaster i frukt. Når bananer, appelsiner og tomater modnes går grønne kloroplaster over til å bli henholdsvis gule eller røde kromoplaster. Når en potet blir grønn omdannes amyloplaster til kromoplaster.



Kloroplastene kan bevege seg i cellene ved flytting mot pluss-enden på aktin mikrofilamenter. Myosin har to hoder med ATPase-aktivitet festet til aktin. De to halene fester lasten.

## Cellekjernen - informasjon og DNA

Cellekjernen inneholder genetisk informasjon om vekst, metabolisme og differensiering. Cellekjernen er omgitt av en **dobbel kjernemembran** festet sammen ved **kjerneporer**, og det er et **perinukleært rom** mellom kjernemembranene. Kjernen inneholder DNA og protein i kromosomer i et nukleoplasma. **Nukleolus** er et avgrenset område i kjernen som lager ribosomalt RNA. RNA fra kjernen går ut gjennom porene til cytoplasma, og protein som lages i cytoplasma går motsatt vei inn i kjernen. Proteiner som skal fra cytoplasma til kjernen er tagget (merket) med et "kjernesignal". Proteiner med en **kjernelokaliseringsssekvens** kan bli fraktet fra cytosol og inn i kjernen. Eksport og import av proteiner til cellekjernen gjennom kjerneporekomplekset som virker som en molekylær sil og skjer ved hjelp av monomert G-protein (RAN), samt  $\alpha$ - og  $\beta$ -importin. Cellekjernens yttermembran har bundet ribosomer og er festet til endoplasmatisk retikulum. Lumen i endoplasmatisk retikulum henger sammen med det perinukleære rom. Kjerneporene er komplekse med mange forskjellige nukleoporiner som virker som molekylær sil, og en sentral plugg med transportprotein deltar i transporten. I mitosen løses kjernemembranen opp, men vesikler bygger kjernemembranen opp på nytt etter celledelingen.

**Kjerneporekomplekset** består av mange proteiner og en sentral transporter. I kjernen skjer det lagring og replikasjon av DNA. Kromosomer og et nettverk av protein danner et kjernematriks. Kjernematriks består av et kjernelamina langs den indre kjernemembranen og et indre kjernematriks. **Kromatin** består av DNA og protein. Hvert kromosom ligger i et eget kromosomterritorium, og kan merkes eller farges med kromosomspesifikke prober.

Flere doble lineære DNA-helikser er tvunnet to ganger rundt åtte histonproteiner som danner et nukleosom. Under mitosen vil DNA-protein (kromatin) kondenseres til 30 nanometer kromatinfibre med seks nukleosomer per vinding, og denne er videre foldet og pakket i kromosomer. I interfase er det to typer kromatin: ca. 10% kompakt pakket **heterokromatin** med inaktiv transkripsjon og færre aktive gener og ca. 90% **eukromatin** med aktiv transkripsjon. Det er en overgang mellom heterokromatin og eukromatin. Heterokromatin inneholder centromerer, områder i nærheten av telomerer, tandemrepetert DNA (150-180 bp-repetert), spredt repetert DNA (mikrosatelitter, enkeltsekvensrepetert, 2-5 bp repetert fra hundre til tusenvis av ganger, samt transposoner. Syntesen av ribosomalt RNA (rRNA) skjer i et granulært **nukleolus** i kjernen. Nukleolus inneholder deler av kromosomer med repeterte ribosome gener (rRNA gener) i klynger og danner **nukleolar organiserende region** med høyt innhold av guanin og cytosin. Det er en eller flere nukleoli per kerne. To subenheter med rRNA, en stor og en liten, danner 80S ribosomer i cytoplasma og er sete for proteinsyntese. Transkripsjon er syntese av budbringer RNA (mRNA). Ribosomene forflytter seg langs mRNA og i en translasjon lages protein fra aminosyrekoden i mRNA. Det er åpning inn til kjernen gjennom kjerneporekompleks,

og trafikken kan bli styrt av kjernelokaliseringsssekvenser.

## Mitokondrier og respirasjon

Mitokondrier og kloroplaster er semiautonome energiproduserende organeller dannet fra endosymbionter og de deler seg ved fisjon. De inneholder lineært DNA. Mitokondrier med variabel form er omgitt av en glatt yttermembran. Den indre mitokondriemembranen er foldet ved invagineringer, danner **crístae**. Den indre membranen inneholder ca. 70% protein, fosfolipider (fosfatidylkolin eller fosfatidyletanolamin), enzymer, transportproteiner og elektrontransportkompleksene i respirasjonsskjeden. Den indre membranen er impermeabel for  $H^+$ , slik at  $H^+$  kommer bare gjennom membranen via  $H^+$ -ATPase. Det indre matriks i mitokondriene inneholder enzymene i Krebs-syklus. De fleste enzymene i Krebs-syklus alges i kjernen og importeres fra cytosol. Mitokondriene kan fusjonere og danne nettverk. Mitokondriene er ca 1-3  $\mu m$  lange og ca. 0.5-1  $\mu m$  i diameter. Planter har færre mitokondrier per celle enn dyr. Antall, 50-200 stykker per celle, avhenger av metabolsk aktivitet. Det er mange mitokondrier i lukkecellene. Mitokondriene inneholder sirkulært DNA (mtDNA) med størrelse ca. 180-3000 kbp i et området kalt nukleoid, og mtDNA i planter er større enn det man finner i dyr. I pattedyr koder 16kbp mtDNA for 13 proteiner, men i Arabidopsis koder mtDNA for 35 proteiner. MtDNA koder for tRNA, rRNA og ribosomproteiner, samt flere subenheter i kompleksene i respirasjonsskjeden. Mer enn 2000 proteiner lages i cytosol og importeres til mitokondriene. Mitokondriene har polyploidi, og det blir færre mtDNA når cellen blir større og mitokondriene deler seg. DNA replikasjonen i mitokondrier og plastider er avhengig av cellekjernen. Mitokondriene inneholder prokaryot 70S ribosomer. Det kan finnes fra 100-3.000 mitokondrier per celle.

Translasjon i plantemitokondrier følger strikt universell genetisk kode, forskjellig fra andre eukaryoter som har avvikende kodoner. Mitokondrie DNA har RNA-editering som gir endring i nukleotidsekvens, og det finnes signaler som styrer mRNA stabilitet. Mastersirkel mtDNA splittes i mindre subgenomsegmenter og gener kan nedreguleres ved å minske antall kopier av segmentene. Proteinaktivitet kan bli regulert på posttranslasjonsnivå via degradering.

Det lages nye mitokondrier via deling. Den indre membranen er foldet i cristae som går inn i organellen og inneholder ATP syntase. Den ytre membranen er relativt fritt permeabel for mindre molekyler via poriner (proteinkanaler). Mitokondriene inneholder enzymene for sitronsyresyklus og elektrontransportørene for oksidativ fosforylering. Cardiolipin er et fosfolipid i den indre mitokondriemembranen. Mitokondrier nedarves vanligvis maternalt, men hos cypresser kan de nedarves paternalt.

## Peroksysomer, glyoksysomer og oleosomer

Peroksysomer og glyoksysomer er omgitt av enkel membran. **Peroksysomer** finnes i alle eukaryote celler, inkludert fotosyntetiserende celler hvor de deltar i

fotorespirasjon. **Glykoxysomer** finnes i frø med fett som opplagsnæring, og deltar i glykoxylatsyklus hvor fett somdannes til sukker. I spirende fettfrø er det glykoxysomer som bryter ned fett via  $\beta$ -oksidasjon, og videre til succinat i **glykoxylatsyklus**. Hos noen nitrogenfikserende planter deltar en type peroksisomer i omdanning av urinsyre til ureidene allantoin og allantoinsyre. Alle disse tre typene organeller kan omsette skadelig hydrogenperoksid ved å overføre elektroner/protoner til oksygen som omdannes til hydrogenperoksid ( $H_2O_2$ ). Hydrogenperoksid brytes videre ned av katalase. Hydrogenperoksid kan være potensielt skadelig i cellen og er derfor lokalisert til et eget reaksjonsrom. Perokxysomer lages ved deling av allerede eksisterende perokxysomer. Perokxysomene inneholder verken DNA eller ribosomer, og formeres ved deling. Glykoxysomer kan omdannes til perokxysomer i grønne blad

**Oleosomer** er oljelegemer (fettlegemer, sferosomer) som lagrer fett som triacylglycerol. Oleosomene er omgitt av en halv enhetsmembran med fosfolipider, en halv dobbeltmembran, hvor den polare siden av fosfolipidene i membranen vender ut og den hydrofobe upolare delen med acylhydrokarbonkjeden vender inn mot fett. Oleosomene er omgitt av fett (oleosiner) som hindrer kontakt og fusjonering av oleosomer. Lipase spalter lipider til glycerol og fettsyrer. Biosyntesen av triglycider avsluttes i endoplasmatiske retikulum, og lipider akkumuleres mellom de to monolagene i bilaget i ER. Fettsyrene nedbrytes i  $\beta$ -oksidasjon og acetyl-CoA somdannes til sukker via glykoxylatsyklus og glukoneogenese.

## Plasmodesmata

Plasmodesmata (ent. plasmadesma) kobler sammen cytoplasma i to naboceller og danner en kontinuerlig symplast med symplasttransport. Plasmodesmata er en rørformet utvidelse av plasmamembranen, 40-50 nanometer i diameter. Strukturen til plasmodesmata består av et trangt rør med endoplasmatiske retikulum (ER) som danner en sentral stav (desmotubul) og er kontinuerlig med ER i de to nabocellene. Globulære proteiner danner en heliks med utvekster i poren mellom cellene. Filamentproteiner deler poren i 8-10 mikrokanaler. Plasmodesmata er en størrelseseksklusionslimit hvor molekyler med molekylvekt 700-1000 dalton (1.5-2 nanometer (nm) i diameter) kan passere. Transporten skjer gjennom cytoplasmasilen i det trange rom mellom desmotubul og plasmamembranen.

Noen celler er cytoplasmatiske isolert og har ikke plasmodesmata til nabocellene. Det gjelder bl.a. lukkecellene i spalteåpningene, og i noen typer floem. Om høsten kan plasmodesmata bli lukket ved hjelp av kallose og om våren åpnes plasmodesmata via enzymet kallase.

For en vellykket poding må det opprettes sekundære plasmodesmata mellom podekvist og grunnstamme, eller via skudd og kambium ved okulering. Det er to typer plasmodesmata dannet på forskjellig tidspunkt:

**Primære plasmodesmata** dannes ved celledeling. Golgivesikler danner celleplate gjennomtreng av ER og mikrotubuli som danner en rørformet cytosolforbindelse mellom de to nydannede nabocellene. Primære plasmodesmata kobler sammen klonrelaterte celler.

**Sekundære plasmodesmata** dannes etter at celleveggen er dannet og skjer via invaginering av plasmamembranen eller greining av primære plasmodesmata. Sekundære plasmodesmata kobler sammen ikke-klonrelaterte celler.

Noen virus som tobakksmosaikkvirus (18x300 nm) kan forflytte seg fra celle til celle via plasmodesmata hvor viruset danner et bevegelsesprotein som åpner opp plasmodesmata slik at viruset slipper igjennom.

## Cytoskjelett og motorproteiner

**Cytoskjelettet** er et tredimensjonalt nettverk av proteinfilamenter i cytosol og består av mikrotubuli, mikrofilamenter og intermediære filamenter. Cytoskjelettet er et stillas for bevegelse av organeller og cellebestanddeler. Cytoskjelettet gir ankerfeste for molekyler og organeller, og ved siden av feste gir det mobilitet i cellen og informasjon om tredimensjonal geometri og retning via polaritet. Cytoskjelettet deltar i mitose, meiose, celleveggdannelse, forflytning av cytoplasma og organeller, samt bestemmer celleform og celledifferensiering. Hode- til hale sammenkobling av proteinsubenheter som danner cytoskjelettet gir en innebygget **polaritet** og symmetri hvor hver ende er forskjellig. Den dynamiske enden kalles positiv (+) og den lite aktive enden kalles negativ (-). Mikrotubuli og mikrofilamenter er laget av globulært protein og har polaritet.

**Mikrotubuli** er hule sylinderrør polymere av tubulin monomere, polart  $\alpha$ - og  $\beta$ -**tubulin** hver med molekylvekt ca. 55 kDa.  $\beta$ -tubulin binder **GTP** som kan hydrolyseres, og mikrotubuli dannes ved å hefte sammen subenheter vha. GTP. Mikrotubuli er avhengig av GTP i polymeriseringen. Mikrotubuli er mer ustabile enn mikrofilamenter.  $\alpha$ - og  $\beta$ -tubulin lager et hult rør ca. 25 nanometer i diameter dannet av 11-16 protofilamenter. En mikrotubul består fra hundre til tusenvis av tubulinmonomere organisert i tretten kolonner kalt protofilamenter.

**Mikrofilamenter** med diameter ca. 7 nanometer er aktinfilamenter satt sammen som en polymer av globulært aktin (G-aktin) som kan binde og hydrolysere **ATP**. Hvert aktinmolekyl er et polypeptid med molekylvekt ca. 42 kDa. Mikrofilamenter består av to kjeder med polymeristerte aktin-subenheter i en heliks. Aktin danner slanke tynne spiralformete polymere, mens mikrotubuli danner rør. Mikrofilamenter er polare med en aktiv pluss (+) ende og en mindre aktiv minusende. Det er to typer aktin: Løselig/ globulært aktin (G-aktin) og polymert/fibrillært aktin (F-aktin). Mikrofilamenter styrer bl.a. vesikkeltransport fra Golgiapparatet.

**Intermediære filamenter** er en variert gruppe heliksformete filamenter med diameter ca. 10 nanometer, og som gir funksjonell støtte for membraner. Intermediære filamenter er tynnere enn mikrotubuli, men tykkere enn mikrofilamenter. Monomerene er stavformet med en lang  $\alpha$ -heliks og to  $\alpha$ -helikser danner en dimer hvor to stykker gir en tetramer som pakkes som et tvunnet reip. Eksempel er proteinet lamin (kjernelamin) på innsiden av kjernemembranen, et protein som kan fosforyleres. Kryssbindende proteiner kobler sammen polymerene i cytoskjelettet. Fimbrin lager en samling av aktinfilamenter som får en pluss og minus ende.  $\alpha$ -aktinin kobler sammen aktinfilamenter antiparallelt slik at det blir både pluss og minus i hver sin ende.

Mikrotubuli og mikrofilamenter bygges opp og ned kontinuerlig med halveringstid minutter, og fungerer også som et reservoir for protein. Noen proteiner har til oppgave å stabilisere cytoskjelettet og andre destabiliserer, altså en dynamisk opp- og nedbygging. Kalsium deltar bl.a. i depolymeriseringen av mikrotubuli. Aksessorisk aktinbindende protein (ABP) i mikrofilamenter og mikrotubuliassosiert protein i mikrotubuli (MAP) hindrer depolymerisering. Polymeriseringen av aktin skjer i tre trinn. Først aggregering av aktinmonomere til oligomere. Deretter virker oligomere som start for elongeringsfasen og tilslutt følger en steady-state fase. Når monomere er inkorporert i protofilament omdannes ATP til ADP.

Mikrotubuli polymeriseres på samme måte som aktin med  $\gamma$ -tubulin ringkompleks som starter polymeriseringen av  $\alpha$ - og  $\beta$ -heterodimere til protofilamenter. Tretten protofilamenter assosieres og rulles sammen til et rørformet mikrofilamenter.

Filamenter og mikrotubuli danner veinettet og stiene i cellen, men det er proteiner som gjør selve flyttejobben. Mekanokjemiske proteiner kalles **motorproteiner**. Eksempler på slike er **myosin**, **dynein** og **kinesin** som alle bruker ATP til drivkraft. Alle har et globulært hode som festes til cytoskjelettet og en stavformet hale som festes til det som skal fraktes. De har forskjellige transportoppgaver. Myosin som er det kraftproduserende enzymet i muskler sammen med aktin, og finnes i mange forskjellige typeklasse, men bare noen få typer i planter. Myosiner har et langt stavformet område med hoder i enden (myosin II). Myosin I har kort hale. Myosin motorprotein hydrolyserer ATP når det bindes til aktin. Myosin beveger seg langs aktin fra plussende til minusende. Aktin mikrofilamenter deltar i veksten i spissen av pollenslanger.

Kinesin og dynein er motorproteiner som forflytter organeller, bindes til mikrotubuli, og stort sett frakter dyneiner stoffer til minusenden på mikrotubuli, og kinesiner til plussenden. Av de 61 familiene med kinesiner beveger ca. 2/3 mot plussenden og 1/3 mot minusenden. Kinesiner deltar i transporten av organeller, mikrotubuli, vesikler og fungerer som mitotisk spindel i fraktingen av kromosomer under celledelingen.

Planter har ikke dyneiner, men finnes i dyr og protister. Det er to hovedtyper dyneiner: Aksonemale dyneiner som er motorproteiner i eukaryote cilier og spermceller. Cytoplasmatiske dyneiner finnes i cytoplasma i alle celler.

Før mitosen depolymeriserer mikrotubuli og repolymeriserer før profase og danner **preprofasebånd** (PPB) omkring cellekjernen bestående av en ring med mikrotubuli der den nye celleveggen skal anlegges ved celledelingen. I profase samles mikrotubuli på to sider av kjernen og danner en **profasespindel** som organiserer mikrotubuli og som ligner på centrosom hos dyr. I metafase forsvinner kjernemembranen, PPB nedbrytes, mikrotubuli reorganiseres og danner mitosespindel. Noen mikrotubuli er festet til kromosomene som **kinetokor** i centromeren, og noen mikrotubuli er ikke festet til kromosomene. Noen av spindlene er festet til kinetokoren på hver sin søsterkromatid på centrosomområdet på kromosomene. Andre spindler med varierende lengde går ut fra cellepolen, uten å synes å være festet til noe spesielt, noen i rask opp- og nedbygging, andre mer stabile.

Ved celledelingen i profasen forsvinner de **kortikale mikrotubuli** som har deltatt i

organiseringen av cellulosefibrillene i veggen, men består i preprofasebåndet som etter hvert skal gi ny cellevegg, samtidig som kjernemembranen løses opp i form av vesikler. Den mitotiske spindelen under celledelingen består av mikrotubuli og tilhørende proteiner. Minusenden til spindelen er festet til polen i cellen. **Celleplate** med pektin er forløper for ny vegg. Celleplate er dannet ved samling av vesikler i midtsonen av spindel organisert av **fragmoplast** bestående av ER og mikrotubuli, dannet seint i overgang anafase-telofase. Fragmoplast deltar i avlevering av sekretoriske vesikler med celleveggmateriale. Plantecellene har en bred diffus pol, i motsetning til dyrene som har en sentral pol bygget rundt centrosom bestående av centrioler. Plantene har ikke centrosom. Fra metafaseplaten trekker spindelapparatet de sammenpakkete kromosomene til hver sin pol av cellen. Pakkingen av DNA i tykke kromosomer er helt vitalt for at denne mekaniske forflytningen skal skje uten at DNA-heliksen blir skadet. Deretter vokser fragmoplasten (celledelingsorganelle) bestående av aktin, myosin og mikrotubuli ut mot veggen og danner ny vegg mellom de to nye cellene.

Aktin kan delta i **cytoplasmastrømning**, et fenomen som er mye studert i internodieceller hos kransalger *Chara* og *Nitella*. Cytoplasmastrømning skjer via bunter med aktinmikrofilamenter parallelt med bevegelsesretningen i interaksjon med aktin og myosin.

Vesikler i Golgi-apparatet beveger seg langs aktinfilamenter både i eksocytose og sekresjon. I vesikkeltransporten deltar GTP-bindende proteiner bl.a. GTPaser i Rab-familien. Til vesiklene er det festet et proteinkompleks (v-SNARE) som passer inn i en t-SNARE på "target"-membranen.

Kloroplaster kan flytte seg i cellen til lys- eller skyggestilling avhengig av lysforholdene. Kloroplastbevegelser i blått lys skjer via mikrotubuli og mikrofilamenter. Kloroplasten i algen *Mougeotia* kan beveges via rødt og mørkerødt lys i fytokromsystemet. I denne forflytningen deltar også cytoskjelettet med kinesin og dynein.

De fleste eukaryoter har i løpet av livssyklus en utvidelse kalt undulipodia (entall undulipodium) også kalt cilium eller eukaryot flagell. Alle undulipodia er laget av mikrotubuli som har et karakteristisk tverrsnitt  $9 + 2$  omgitt av en membran som er en utvidelse fra cellemembranen. Denne symmetrien finnes også i kinetosomer eller basal legemer hvora undulipoda synes og vokse, og i centrioler, som for øvrig ikke finnes i planter. Ubndulipodia er sammensatt av 40 forskjellige proteiner hvorav det viktigste er tubulin.

De prokaryote har flageller (entall flagellum) som ikke undulipodia dvs. de er ikke laget av mikrotubuli og har ikke  $9 + 2$  symmetrien. Flagellene er laget av et globulært protein kalt flagellin. Slagbevegelsen til et undulipodium lages ved transformasjon og kjemisk til mekanisk energi langs hele lengden av organellen. En flagell beveges ved rotasjon av feste til cellen.

## Transport i og mellom celler

Inndelingen av cellen i kompartementer omgitt av membraner og størrelsen på en



flercellet organisme setter store krav til styringen av transport i og mellom celler. Alle deler av cellen må kunne motstå det molekylære bombardementet via Brownske bevegelser. Transporten skjer via **konveksjon** og **diffusjon** forårsaket av konsentrasjonsforskjeller.  $H^+$ -ATPase surgjør celleveggen og lager en elektrokjemisk gradient, som kan kobles til transport av andre stoffer. Transport i vesikler skjer via cis-Golgi til trans-Golgi nettverk videre med clathrindekkete membraner til plasmamembran eller vakuole. Langdistansetransport av vann og næringssalter i xylem (vedvev) er drevet av overflatespenning, og gradienter i **vannpotensial**. Kavitering kan være en beskyttelse mot ytterligere skader ved for stor transpirasjon. **Trykkstrøm** (massestrøm) i floem (silvev) skyldes forskjeller i osmotisk trykk ved innlastings og utlastingssted. Endoplasmatisk retikulum går igjennom plasmodesmata og danner en sentral sammenpresset stav (desmotubul), og ved eventuell mekanisk skade av cellene kan plasmodesmata tettes igjen med kallose i løpet av kort tid. mRNA og virus kan bli fraktet gjennom plasmodesmata og videre rundt i planten via floemet.

## Membraner og transport

Cellemembranene består av et molekylært dobbeltlag av **fosfolipider** hvor de hydrofobe fettsyrene vender inn mot midten av membranen og den hydrofile enden vender ut mot cytoplasma. Membranproteiner har en eller flere deler som går igjennom membranen, koblet sammen med løkker på utsiden av membranen. Noen proteiner bl.a. glykoproteiner er mer løselig tilknyttet membranen. I membranene er det selektive ionekanaler hvor drivkraften er forskjellen i elektrokjemisk potensial over membranen. Spenningsavhengige  $K^+$ -kanaler påvirkes av spenningsnivået i cellen. Vannmolekyler kan bevege seg gjennom membranene selv om de er hydrofobe, men vann går også igjennom spesielle vannkanalproteiner (**akvaporiner**). Det finnes vannkanaler både i plasmalemma og tonoplast. Membranene inneholder  **$H^+$ -ATPase** (P-ATPase) som bruker ATP til å forflytte protoner over membranen. Protongradienten som skapes brukes til å flytte molekyler over membranen i samtransport f.eks. sukrose- $H^+$ -samtransport inn i silrørselementer i floemet. Hos saltvannsalger finnes det en  $Na^+$ -ATPase. Vakuolemembranen inneholder også en  $H^+$ -PPase. F-ATPase brukes til å lage ATP vha. av **den protodrivende kraft** (kjemiosmotisk ATP-syntese).  $Ca^{2+}$ -ATPase har til oppgave å frakte kalsium ut i cytosol. Det finnes minste 4 typer kalsiumkanaler. Kalsiumkonsentrasjonen i cytoplasma er et viktig styringssignal, og kalsiumkanalene påvirkes av flere reguleringsmetabolitter som syklisk ADP ribose (cADP-ribose) eller inositol 1,4,5-trifosfat ( $IP_3$ ). Malat kan fraktes inn i vakuoler gjennom en malatkanal koblet til en gradient i pH, og ut igjen gjennom en bærer.

Proteiner som lages i cytosol på frie ribosomer fraktes til plastider, mitokondrier, plastider, kjerne og peroksisomer. De sorteres og fraktes avhengig av hvilken merkelapp de innehar i form av et **signalpeptid**. **Chaperoner** er proteiner som hindrer folding av de nylagete proteinene før de har kommet gjennom proteinkanalene fram til bestemmelsesstedet. Eksempler på chaperoner /varmesjokkproteiner er Hsp70 med molekylvekt 70 kD som holder proteiner i løselig form og chaperoniner



som Hsp60. Disulfidbindinger dannes vha. proteindisulfid isomerase. Et protein som skal inn i kloroplasten har et signal som slipper det gjennom både ytre og indre kloroplastmembran. Proteiner som skal inn i thylakoidmembranen, f.eks. plastocyanin, må i tillegg ha en tredje adresselapp som viser at de skal til thylakoidene. Histoner, RNA-polymerase, reguleringsproteiner, og til og med DNA-virus som skal inn i cellekjernen, må ha et kjernelokaliseringssignal. Proteiner som skal til cellevegg, vakuoler eller membraner har et signalpeptid i N-terminal ende som gjør at ribosomene binder seg til endoplasmatisk retikulum, og nylaget protein går deretter direkte inn i lumen på vesiklene. For å kunne slippe inn i lumen på endoplasmatisk retikulum må proteinene gjenkjennes av et ribonukleoproteinkompleks (SRP - "signal recognition particle"). Inne i lumen kan det hektes på sukker på proteinet slik at det lages glykoproteiner. N-bundet til amid-N i asparagin eller O-bundet til hydroksylgrupper på serin, threonin eller hydroksyprolin. Proteinene fraktes deretter som kargo i vesiklene fram til bestemmelsesstedet. Mikrosomer er et samlenavn på vesikler fra Golgi, endoplasmatisk retikulum og membraner.

## Størrelser

Plasmamembranen har en tykkelse på 8-10 nm (nanometer). Fettsyrene festet til glycerol har en lengde på ca. 3 nm. Avstanden mellom hydrogen og oksygen i et vannmolekyl er ca. 0.1 nm. Sammenlignet med størrelsen på planteceller fra 10-100  $\mu\text{m}$  (mikrometer) i diameter (1  $\mu\text{m}$ =1000 nm) er plasmamembranen svært tynn. Tykkelsen av celleveggen er ca. 0.5  $\mu\text{m}$ . Bakterier er i størrelsesorden 1  $\mu\text{m}$ , ca. det samme som for mitokondrier og kloroplaster. Bølgelengden for synlig lys fra 400 nm i det blå område til 700 nm i det røde. Små molekyler har diameter i tiendels nm.

## Meristemer

### Apikale meristem og plantekropp

Plantene vokser fra meristemer som gir opphav til forskjellige typer cellevev: hudvev, grunnvev og ledningsvev. Vegetative meristemer lager repeterte strukturer. En struktur i planten blir til ved gjentatte celledelinger utviklet som en integrert enhet. Blad, stengel, kronblad og de fleste andre planteorganer har genetisk **determinert vekst** og når en maksimal størrelse, eller planten får et bestemt antall blader og blomster over en kort vekstperiode. **Skuddapikalmeristemet** (SAM) og **rotapikalmeristemet** (RAM) inneholder klynger av **initialceller** som har sakte deling, udestimert skjebne og rekrutterer celler til differensiering. **Ubestemt åpen vekst** drar nytte av gode vekstperioder som gir økt bladantall og overflate, og vekst av røtter.

Rothetta lages distalt fra RAM og deltar i gravitropisme, beskyttelse av RAM og smøring av rotspissen. Cellene rundt initialcellene har små vakuoler og deler seg raskt. Siderøtter og rothår lages et stykke vekk fra rotspissen. I det rolige senter i RAM er det forskjellige posisjonsavhengige initialceller som gir opphav til spesifikke

celler i rota, rothette, kolumella, epidermis, endodermis og cortex. I Arabidopsis er det 4-7 initialceller. Auxin og cytokinin er også nødvendig for rotutviklingen fra RAM.

Skuddapikalmeristemet (SAM) varierer i størrelse fra *Cycas* med diameter 3 millimeter til *Arabidopsis* med et rundt flatt 50  $\mu\text{m}$  i diameter.

Organene lages av en gruppe celler på flankene av meristemet. Bladprimordier utvikler seg i et karakteristisk genetisk bestemt mønster kalt **fyllotaksis**. Plantene viser stor evne til regenerering og plantecellene er **totipotente**. Parenkymceller kan dedifferensieres til andre typer celler ved å dele seg. Transdifferensiering vil si at en parenkymcelle går over til en annen type celle uten forutgående deling, f.eks. til en styrkevevcelle eller ledningsvevcelle. Embryogenesen gir opphav til **embryo**, den rudimentære plantekroppen. Meristemer er celler som opprettholder egenskapen til embryonale celler, og de kan dele seg i lang tid etter at embryogenesen er avsluttet.

Det apikale skuddmeristemet er omgitt av unge blad og **bladprimordier**. Størrelse og aktivitet til skuddmeristemet varierer med årstid, aktiv vekst om våren, mindre om sommeren, og ettersommer med vekstavslutning. Cellene i meristemet er små med tynne vegger og tett cytoplasma uten sentralvakuole. Hos blomsterplantene består skuddmeristemet av en ytre **tunika** med vanligvis tre cellelag, L1-L3, med L1 ytterst som gir antikline delinger gir opphav til epidermis. Hvert lag har egne stamceller som gir stengel og laterale organer. Gras har bare L1 og L2, noen planter har flere enn tre lag. I blad vil L1 danne epidermis med trikomer og lukkeceller, L2 gir mesofyll og vaskulære celler og L3 gir ledningsstrengslire.

Celledelingene skjer både periklinal og antiklinal. **Perikline celledelinger** med delingsplan parallelt med organets overflate øker antall celler i et lag, mens **antikline celledelinger** med delingsplan vinkelrett på overflaten øker overflaten. Tunika ligger over de indre cellene kalt **korpus**. Senteret i spissen av skuddapikalmeristemet består av en **sentralson** omgitt av en smultringformet **perifer sone**. Sentralsonen har celler med store vakuoler og ligner den stille sonen i rotapikalt meristem. Perifer sone har mindre celler med tett cytoplasma. Bladinitiering skjer i den perifere sonen. Under sentralsonen ligger **ribbesone** som danner det indre vevet i stengel. Noen celler i meristemet vil forbli udifferensierte og kalles **apikale initialceller**. Apikale initialceller ligner stamceller som man finner i dyr. Alle cellene i blod hos dyr kommer fra en liten populasjon med stamceller i beinmargen. Stamcellene er få, pluripotente og deler seg sakte, i motsetning til de avledete cellene som deler seg meget raskt. Apikale initialceller deler seg tilnærmet uendelig, mens de avledete deler seg bare en begrenset antall ganger. Bregner og lavere planter har bare en apikal initialcelle som gir opphav til alle celler i planten. Hos lavere planter lager en **intitalcelle** to datterceller som er ulike, hvorav en er litt mindre og har ikke evnen til å dele seg uendelig. Den andre er en permanent initialcelle. I motsetning har blomsterplantene (angiospermene) flere intitalceller som viser stokastisk celledelingskinetikk. Hver intitalcelle lager en populasjon av datterceller hvorav noen selekteres til neste generasjons intitalceller og resten differensieres til celler med spesifikk funksjon i plantekroppen. Det blir derved mulig å følge **cellelinjer** som avstammer fra en initialcelle. Skjebnen til en celle bestemmes av posisjon og lokalisering i plantekroppen og den bestemmes gradvis av eksponering for et morfogenisk stimuli.

Seleksjonen av datterceller som gir initialceller synes å være tilfeldig. Det finnes en sannsynlighet for at begge datterceller til en gitt initialcelle kan miste evnen til å være stamcelle. En determinert plante med determinert meristem har bare en begrenset mengde vekst før den blomstrer og blomstringen er ofte slutten på den vegetative veksten. Eksempel er ettårige planter. Slike planter mangler permanente initialceller i meristemet. Planter med ikke-determinert vekst f.eks. eføy har et lite antall initialceller i hvert lag av meristemet. Når det vegetative meristemet omformes til blomstermeristem kan veksten bli determinert (avsluttet), men det kan skje revertering tilbake til vegetativt meristem. Eksempler på slike revertanter er gjennomvoksing, hvor det vegetative meristemet vokser tvers igjennom blomsten f.eks. hos tusenfryd. Både vanlige blad fra et vegetativt skuddmeristem og grønne begerblad fra et blomstermeristem har aktive gener for kloroplastutvikling. Fargerike kronblad fra et blomstermeristem uttrykker gener for utvikling av kromoplaster eller gener for syntese av flavonoider.

Det er forskjellige typer meristemer: **Primærmeristem** under embryogenesen. **Akselmeristem** i aksil mellom bladstilk og stengel gir akselknopper. Marginale meristemer på kanten av planteorganer, og **bladkantmeristem** gir vekst av blad. **Blomstestandmeristem** gir blomsterstand, og **blomstermeristem** gir blomsterblad. Det er **interkalære meristem** hos gras. **Laterale meristemer** (vaskulært kambium og korkkambium) gir sekundær vekst. **Meristemoider** er små klynger av celler som gir opphav til trikomer og spalteåpninger.

Blomkål er en mutasjon av kultivaren dyrket kål (*Brassica oleraceae*) som har en abnorm prolifering av meristem. Istedet for å lage blad lager hvert meristem flere meristemer på flanken slik at det blir opptil en million meristemer. Det finnes meristemspezifiske gener som bl.a. koder for histoner. Grønnsaken brokkoli er en masseformering av blomstermeristemer. Blir brokkoli stående for lenge ute på planten vil skuddet strekke seg og gi massiv blomstring.

Maismutanten *knotted* (*Kn1*) er en dominant mutant som mangler skuddmeristem, men har utvekster (knotter) på bladet. Dette gir en stor effekt på bladmorfologien med forkrøplete og fordreide blad som et resultat av abnorm celledeling langs ledningsstregene. *Knotted* mutasjonen påvirker et område av maisbladet kalt ligula, en utvekst mellom overgangen bladplate og bladstilk. *Kn1* genet inneholder en konservert region kalt **homeoboks** som finnes i gener som kontrollerer viktige hendelser i utviklingsprosesser hos eukaryoter. Homeoboksgener koder for en gruppe **transkripsjonsfaktorer** som kalles homeodomene proteiner.

## Laterale meristem

Tofrøbladete planter og gymnospermer har **laterale meristem** (kambier) som gir sekundær tykkelsesvekst. Lange fusiforme stamceller i **vaskulært kambium** gir sekundært ledningsvev, og margstrålestamceller gir margstråler. **Korkkambiet** gir periderm og bark. Enfrøbladete planter har ikke lateral kambievekst, og mange av dem er derfor urter. Palmer og trelignende lijer har et **primært tykkelsesmeristem**

under skuddspissen like under bladfestene. Det primære tykkelsesmeristemet omgir det apikale meristemet og ved perikline delinger gir det radialvekst. Det avsettes parenkym utover og parenkym og ledningsstrenger innover. Dette gir en sterk økning i diameteren på stammen like under kronen. De enfrøbladete kan imidlertid ha vanlig periderm.

## Kimære meristemer

Kimærer er monstere fra gresk mytologi med kropp til geit, hale til en drage og hode til en løve. Et kimært meristem består av lag eller sektorer av celler med forskjellig genetisk sammensetning. Kimærer kan lages på forskjellig måte og er viktige i studiet av cellelinjer:

- 1) Ioniserende stråling eller røntgenstråling som induserer mutasjon i noen men ikke alle cellene i meristemet.
- 2) Colchicin kan brukes til å lage polyploide celler for de cellene som akkurat deler seg under colchicin-behandlingen.
- 3) Meristemponing.

**Variering** i eføy og geranium med sektorer med hvite og grønne områder lages av muterte celler som har mistet evnen til å utvikle kloroplaster. Det hvite eller gulhvite vevet kommer fra en eller flere spesielle celler i meristemet

Det finnes to hovedtyper kimærer:

- 1) **Perikline kimærer** med ett eller flere genetisk atskilte lag parallelt med overflaten, og som skyldes at det apikale meristem hos angiospermene er satt sammen av konsentriske ringer (lag L1-L3). Perikline kimærer gir en mosaikk hvor den genetiske sammensetning av et eller flere av meristemlagene skiller seg fra de andre f.eks. bergflette (*Hedera helix*) med en blanding av villtype- og mutantceller, hvor L2 er et lag med celler som gir albinisme.
- 2) Sektorkimærer omfatter flere av cellelagene L1-L3.

## Cellesyklus og kontroll av celledelingen

Vekst kan defineres som irreversibel økning i cellevolum, men også som økning i antall celler. Under embryogenesen minsker cellestørrelsen. Celler øker ikke bare i størrelse, men også i lengde slik at det må finnes en polaritet. Både auxin og gibberellin kan gi økning i cellestørrelse og spesielt gibberellin er viktig for strekning av planter. Lys er en ytre faktor som påvirker strekning.

Det er faser i celledelingen: Sekvensen **G1** (forberedelse til DNA replikasjon, prereplikasjonskompleks ved replikasjon) - **S** (syntese og DNA-replikasjon) - **G2** (forberedelse til mitose) - **M** (mitose) kalles **cellesyklus**. En gruppe proteiner kalt **cycliner** starter celsesyklus og initierer mitosen. Mengden cycliner forandrer seg betydelig gjennom syklus fra nær null tidlig i G1 til en topp ved starten av mitosen, for deretter å falle tilbake til null seinere i mitosen. Genene som koder for cycliner har blitt klonet og de er konserverte. I planter behøver nødvendigvis ikke mitosen etterfølge replikasjonen av kromosomer, selv om det vanligvis skjer i meristematiske celler.

Celler som forlater G2 vil bli tetraploide. Celler i bladmesofyll kan ofte være tetraploide. **Polyploidi** oppstår fordi cellene går igjennom G1-S-G2 flere ganger uten å gå inn i mitosen. Tre prosesser i celledelingen spiller en viktig rolle i plantenes utvikling:

- 1) Start av organdannelse fra celledelinger i et meristem.
- 2) Celledelingsplanet bestemmer formen på et planteorgan.
- 3) Start av celledifferensiering.

I mosetning til røtter har stengelvev liten vekst når stengelbiter dyrkes kunstig i et enkelt kulturmedium. Det er først når det dannes adventivrøtter på stengelbitene at veksten tiltar. Det må være en rotavledet faktor som regulerer vekst av skuddet. Auxin og cytokin deltar i cellesyklus hvor auxin regulerer hendelser tilknyttet DNA replikasjonen og cytokinin regulerer hendelser tilknyttet mitosen. Krongalle på planter forårsaket av bakterien *Agrobacterium tumefaciens* er et eksempel på en form for kallusvekst styrt av auxin og cytokinin. Cytokininer må ikke forveksles med cytokiner fra immunsystemet hos vertebrater.

Dannelse av lukkecellene i spalteåpningene i epidermis er et eksempel på ulik celledeling hvor den mitotiske spindel ikke er sentrert i cellen og de to dattercellene får forskjellig størrelse. Lukkecellene har i tillegg kloroplaster, noe de andre cellene i epidermis ikke har. Utvikling av rothår er et annet eksempel på ulik celledeling.

I 2001 fikk Leland Hartwell, Tim Hunt og Paul Nurse nobelprisen i fysiologi og medisin for banebrytende studier av reguleringen av cellesyklus. Det startet på 1970-tallet med bruk av enkle modellorganismer. Selv om ikke alle studiene er gjort på planteceller er det svært mange likhetspunkter i cellesyklus hos alle eukaryoter.

Cellesyklus består av 4 faser:

M - Mitose hvor kromosomene kondenseres og atskilles og det skjer en celledeling (cytokinese). Kjernemembranen brytes ned, mitotisk spindel dannes, replikerte kromosomer festes til spindel. I overgang metafase til anafase skilles to kromatider lag. Datterkromosomer trekkes til motsatte poler.

S - Syntese av DNA og replikasjon av kjerne-DNA. Mengden DNA dobles i S-fasen og halveres i mitosen.

G1 - Gap som atskiller M og S. Kromosomene er diffuse og det er ingen tydelig struktur i kjernen. Cellen gjør forberedelser til DNA-replikasjon. Kraftig regulering ved G1.

G2 - Gap mellom S og M hvor cellen forbereder seg til mitose og celledeling.

Celler som deler seg må igjennom syklusen G1-S-G2-M for å kunne gi to datterceller. Hos planter lages det en celleplate mellom de to nye cellekjernene før de atskilles med en cellevegg. Hartwell brukte vanlig knoppkytende bakegjær (*Saccharomyces cerevisiae*) til sine studier og identifiserte gener som kodet for delingen av disse eukaryote cellene. Nurse brukte fisjonsgjæren *Schizosaccharomyces pombe*. Det ble isolert *cdc* celledelingsmutanter (*cdc* - "cell division control"). Celledelingen ble med forskjellige metoder synkronisert og med disse metodene kunne de vise at mange proteiner deltar i cellesyklus i en dynamisk opp- og nedbygging ved kontrollpunkter.

**Protein kinaser** og **fosfataser** deltar i styringen av celledelingen.

**Cykliner** er reguleringsproteiner som lages og brytes ned under cellesyklus. Sykliner er i rask omsetning via merking med ubiquitin og nedbrytning i proteasomer.

Det finnes fire hovedtyper sykliner:

G1/S-cykliner hvor cyklin E aktiverer seint i G1.

S-cykliner hvor cyklin A aktiverer ved start av S

M-cykliner hvor cyklin B aktiverer like før M

G1-cykliner hvor cyklin D aktiverer tidlig i G1.

Cytokinin og brassinosteroid kan virke på celledeling via økning i cycD3.

Cellesyklus reguleres av **cyklinavhengige proteinkinaser** (CDK - "cyklin dependent kinase"). Aktiviteten til de cyklinavhengige kinasene er under streng reguleringskontroll. Aktiviteten til cyklinavhengige kinaser skjer ved fosforylering og defosforylering av CDK eller via regulering av syntesen av CDK. CDK finnes i både aktive og inaktive former avhengig av hvilke av aminosyrene threonin eller tyrosin på enzymet som er fosforylert. Reguleringen kan også skje ved separate inhibitorer (CDI ("cyklin dependent kinase inhibitor"). Abscisinsyre kan bl.a. inducere syntese av CDI. CDK er konserverte proteiner gjennom evolusjonen og de har bindingssete for ATP i den N-terminale enden. De har også et PSTAIRE-domene som kan binde cykliner. CDK1 bestemmer om celler skal gå fra G2 til M. CDK 2 og CDK3 avgjør om cellene skal gå fra G1 til S, og CDK4 og CDK 6 i G1 bestemmer om det skal bli en ny syklus eller ikke.

Hunt arbeidet med oocytter i sjøpinnsvin og fant at **mitoseforberedende faktorer** (MPF - "mitosis promoting factor") var nødvendige for å få cellene inn i mitosen. Økningen i MPF fulgte økning i cykliner. Mengden cykliner i sjøpinnsvinegg øker og minker periodisk gjennom cellesyklus. Starten på DNA-replikasjonen må være nøyaktig bestemt og skje bare en gang i løpet av cellesyklus. Celler i S-fase inneholder en aktivator som får kjerner i G1-fase til å gå inn i S, og en repressor hemmer DNA-replikasjonen før cellene går inn i M. Kontrollpunktene i cellesyklus hindrer at celler som har hatt feil ved dupliseringen av kromosomer går inn i mitose. Kontrollpunktene finnes både i og før S-fase og i G2. I G1 bestemmes det om cellene skal gå inn i en ny cellesyklus. Hvis det skulle skje en mitose i G1 vil dette gi tap av kromosom (aneuploidi). **MCM-proteiner** (MCM - "minichromosome maintenance) er nødvendige for replikasjonen og finnes i kjernen i G1-fase, men i cytoplasma i S og G2. MCM-proteiner og cdc - proteiner (cdc-"cell division control") danner et kompleks som gir cellen lisens til å starte DNA-replikasjon. Det finnes 6 forskjellige MCM-proteiner hos eukaryoter. Disse har en konservert sekvens på 210 aminosyrer med likheter til en DNA-avhengig ATPase. For å øke hastigheten på DNA-replikasjonen starter replikasjonen på mange steder langs kromosomene. Starten på hver av replikasjonspunktene merkes med et gjenkjennelseskompleks med proteiner (ORC - "origin recognition complex") inkludert MCM-proteiner. Replikasjonspunktene kan gjenkjennes som replikasjonsbobler langs DNA-heliksen.

I **profase** i mitosen er kromosomene tykke og består av to kromatider. Både kjernemembranen, nukleolus og preprofasebåndet forsvinner og det begynner å dannes en spindel fra pol til pol i cellen. Topoisomeraser lager supertvinning av DNA

og kromosomene kan observeres i et lysmikroskop. I **metafase** nedbrytes kjernemembranen og alle kromosomene samles i cellens ekvator, og celledelingen kan ikke fortsettes før alle kromosomene ligger i ett plan. Metafasekromosomene er holdt sammen av kohesiner i centromer region, og deles av separase. I centromeren er to kromatider festet saman med repetert DNA og telomerer. Telomerer beskytter kromosomenden mot nedbrytning. **Kinetokore mikrotubuli** binder seg til **centromerene** på kromosomene og det går polare mikrotubuli til de to polene i cellen. Noen spindler er bundet til en spesiell region i centromeren, kalt kinetokor, et proteinkompleks. **Kondensiner** og **kohesiner** er proteiner som lages i S-fase og pakker DNA og kromatin slik at det blir mulig å trekke dem gjennom cytoplasma uten at DNA ødelegges. Kontrollpunkter for arrangering av spindelapparatet gjør at cellen går ikke inn i anafase hvis det er feil. **Anafaseforberedene kompleks** (APC - "anaphase promoting complex") er et stort proteinkompleks som gjør at søsterkromatidene kan atskilles i tidlig **anafase A**. I sein anafase B blir mikrotubuli i forhold til hverandre og forlenges slik at søsterkromatidene skyves mot polene. Protein som holder kromatidene sammen nedbrytes og det samme gjør M-fase cykliner. Proteiner som har utspilt sin rolle i cellyklus og skal nedbrytes blir merket ved å binde dem til **ubiquitin**. Ubiquitinmerkede proteiner gjenkjennes av 26S **proteasomer** går til videre nedbrytning. Overgangen fra metafase til anafase skjer via fosforylering av APC styrt av cyklinavhengig protein kinase (CDC5) som virker som en biokjemisk bryter. I **telofase** lager mikrotubuli og F-aktin, plussenden mot midten, en **fragmoplast**, og kromatidene omgis av kjernemembraner. Ved fragmoplasten samles vesikler dannet ved endocytose av cellemembranen og det dannes en celleplate. Celleplaten vokser ved å utvide seg mot celleveggen ved å føye til nye vesikler. Målgjenkjenningproteinet KNOLLE, kalt dynamin (GTPase) i SNARE-familien deltar i vesikkelfusjonen. ER går gjennom celleplaten og gir primære plasmodesmata. Kinetokore mikrotubuli forsvinner, kromosomene dekkondenseres og oppbyggingen av celleplaten påbegynnes. Ved **cytokinesen** er det to datterceller atskilt av en ny cellevegg, men hvor cellene står i kontakt med hverandre gjennom primære plasmodesmata. Cellekjernen er omgitt av en fullstendig kjernemembran og nukleolus gjendannes. Plantehormonene auxin og cytokinin gir økt mengde G1-cykliner. Cytokinin kan få celler til å gå inn i mitose ved å aktivere en fosfatase som fjerner fosfat fra tyrosin og gjør at en cyklinavhengig protein kinase (CDK) igjen blir aktiv. Abscisinsyre kan hemme CDK. **Polyploidi** er vanlig i planteceller og oppstår hvis cellen hopper over M-fase og gjennomgår cellyklus flere ganger før den endelige celledelingen. Polyploidi er korrelert med alderen til cellevevet og i eldre celler i en plante er polyploidi mer utbredt enn i unge celler. Polyploidi i de reproduktive strukturer kan gi raskere genevolusjon og artsdannelse med økt tilpasning. Det er ikke bare i cellekjernen hvor det skjer DNA replikasjon. Organelle DNA i plastider og mitokondrier blir også replikert. Det kan finnes fra 20-100 kopier med mitokondrie DNA (mtDNA) i et mitokondrium og fra 50-150 kopier med kloroplast DNA (cp-DNA) per plastide.

Fra gjærceller er det kjent at skader på DNA kan aktivere *RAD* gener. *RAD* proteiner kan f.eks. gi beskyttelse mot radioaktiv stråling. *RAD3* er en DNA-avhengig protein kinase som aktiveres ved binding av enkelttrådet DNA, og som videre aktiverer en kontrollpunkt kinase *chk1* ("check point kinase") som kan stoppe



cellesyklus ved å hemme en cyklinavhengig protein kinase. ATM (Ataxia Telangiectasia mutasjon) hos mennesker er en homolog til RAD3, og hvis det skjer en mutasjon i genet som lager dette proteinet gir dette økt kreftfrekvens. Hos pattedyr er det retinoblastomproteiner (Rb-proteiner) som styrer overgangen fra G1 til S. Rb-proteinene må fosforyleres for å være aktiv og ved fosforyleringen fjernes transkripsjonsfaktoren E2F fra Rb-proteinet. Mutasjoner i genet som lager Rb-proteinet kan gi økt mulighet for kreft.

Autopolyploide planter kopierer og dupliserer hele genomet i arten. Allopoloide har multiple kopier av genomet fra to eller flere atskilte arter. Polyploidi kan skje via ufullstendig meiose i gametogenesisen. Meiose I og II gir fire haploide celler, men det kan skje kromosomdobling viss det ikke skjer påfølgende celledeling. Et diploid egg og diploid sperm kan gi en autotetraploid. Et haploid egg og haploid sperm fra to nærstående arter kan gi en diploid hybrid, som vanligvis er steril fordi det skjer feil under meiosen, men viss det skjer spontan duplisering av genomet kan det dannes allopolyploider. Eksempel fra kål (*Brassica*) som er allotetraploider. Mange landbruksplanter er allopolyploide, og hybridisering gir større effekt enn kromosomduplisering. Mais er en plante som vokser best som diploid. Polyploidi kan fremkalles kunstig med colchicin fra planten *Colchicum autumnale*. Kryssing mellom homozygote høytstående foreldrelinjer kan gi hybridstyrke (heterose) hvor hybriden får bedre egenskaper enn begge foreldrelinjene og gir større avling.

## Polaritet

Celler har polaritet. Auxin transporteres basipetalt i en plante. En gradient i konsentrasjonen av  $Ca^{2+}$  kan være med å bestemme polaritet. Statocytter er celler som responderer på gravitasjonskreftene. Statocytene har en polaritet hvor mikrotubuli i cytoskjelettet sørger for at endoplasmatisk retikulum er asymmetrisk fordelt i cellene. Amyloplaster sedimenterer i et gravitasjonsfelt og gir et signal til statocytene når de presser seg mot endoplasmatisk retikulum. Plasseringen av cellekjernen bestemmes av mikrotubuli og mikrofilamenter i cytoskjelettet, spesielt i celler som skal inn i deling. Dette er lettest å se i celler med store vakuoler hvor kjernen beveger seg fra periferien til sentrum av cellen før deling. Andre organeller som f.eks. plastidene kan også flyttes rundt i cellene styrt av cytoskjelettet. Plassering av kjernen og andre organeller er spesielt viktig ved ulik celledeling. Sortering og atskillelse av cellekomponenter i en polar ulik celledeling gjøres av cytoskjelettet. Generative celler fra planter, unntatt noen gymnospermer mangler plastider slik at plastidene nedarves maternalt via moren. Den første delingen av den hannlige mikrosporen er ulik. Kjernen beveger seg til den ene enden av cellen og plastidene avskjæres fra dattercellen som blir den generative cellen. Både migrasjon av kjernen og fordeling av plastidene i mikrosporen som deler seg er avhengig av et system av mikrotubuli som stråler ut fra kjernen.

Morfologien omhandler plantenes ytre form. De vegetative delene av en plante består

av rot, stengel og blad. Reprodiktive deler består av blomst, frukt og frø. Planter som lever bare en vekstsesong kalles **ettårige**. Vinterrettårige spirer om høsten og overvintrer som frøplante. **Toårige** planter lever i to vekstsesonger. Overvintrer som en bladrosett og setter blomster neste år. Mange av rotgrønnsakene kommer fra toårige planter f.eks. gulrot. **Flerårige** planter lever i tre eller flere vekstsesonger. Flerårige planter kan være **urtaktige** som overvintrer som underjordiske lagringsorganer eller **treaktige**. Vedvev finnes i busker og trær. Trær har ofte en hovedstamme, mens busker har flere, mindre stammer. Klatreplanter kan være treaktige og kalles lianer eller urtaktige og kalles da "vines". Form og arkitektur på overjordiske deler bestemt av art og vekstforhold. De fleste vokser rett opp (ortotrope), men noen vokser horisontalt langs bakken (plagiotropisk). **Monopodiale skudd** vokser fra et apikalt meristem, hvor hovedskuddet utvikles sterkere enn sideskuddene. Eks gran (*Picea abies*). Hos noen stopper hovedskuddet å vokse og akselgreiner overtar i et **sympodiale skudd**. I et sympodiale skudd kan begge (dichasium) eller bare en (monochasium) av sideknoppene utvikles. Vinstokk (*Vitis vinifera*) er monochasium med hvert skudd som slutter med en slyngtråd. Kortsudd på frukttrær med blomster og blad, men langskuddene vegetative. Kortsuddene kan felles.

Planter som vokser i våre strøk i den tempererte sonen har vinterknopper som går inn i en hvileperiode (proleptisk skudd) med bladarr under knoppen. I tropiske strøk finnes planter med sylleptiske skudd som mangler knoppkjellarr og strekker seg mens resten av skuddet gjør det.

## Blad konstruert for fotosyntese

Bladene består vanligvis av en bladstilk med bladfoot og en bladplate. De er vanligvis flate med varierende form med en overflateside (adaksialt) adaptert til lysabsorpsjon og en underside abaksialt adaptert til lysabsorpsjon og gassutveksling. Vinkelen mellom bladstilk/blad og stengelen kalles aksil. I aksilen ligger det et bladknoppmeristem. I et **dorsiventrale blad** er de to sidene av bladet morfologisk og anatomisk ulike.

Bladet kan ha andre funksjoner som torner (kaktus, berberis (*Berberis*)), vannlagring hos kaktus, eller fange insekter (kannebærer (*Nepenthes*, *Sarracenia*), venus fluefanger (*Dionaea*), blærerot (*Utricularia*), soldogg (*Drosera*) og tettegras (*Pinguicula*). Klatretråd hos ert (*Pisum*) er et omdannet småblad, i motsetning til vindrue (*Vitis*) og villvin (*Parthenocissus*) hvor slyngtråd eller festefot kommer fra stengel motsatt et blad. Slyngtrådene hos agurk (*Cucurbita*) kommer fra en sideknopp og kan sies å være homolog med et blad. Hos enfrøbladete har stengelen utformet som en bladslire, og hos gras og ingefær er det en ligul ved overgang mellom skjede og bladplate. Akselblad ved basis av stilken (stipul).

Blad kan være plassert alternerende enkeltvis på hvert nodium, motsatt med et par blad på motsatt side av stengel, eller plassert i spiral hvor hvert blad står i fast vinkel i forhold til det forrige. Dekussert plassering vil si at to blad er festet motsatt til

hverandre på et nodium, hvor det påfølgende bladpar står i rett vinkel på det forrige. Blad kan være plassert i krans med tre eller flere blad på hvert nodium. Enkel bladplate eller sammensatt av småblad. Varigheten varierer fra ettårige til flerårig vintergrønne.

En fytoemer består av ett eller flere blad + en node og internodium mellom to noder, samt en eller flere akselknopper.

Småbladene kan være plassert likefinnet, ulikefinnet, dobbeltfinnet, plamat, eller trifoliat. Hvis det er en dominerende ledningsstreng i bladet kalles det midtnerven eller hovedledningsstrengen (primær), og sideledningsstrengene som greiner ut fra hovedledningsstrengen kalles sekundære.

Enkelt helt blad bestående av en bladplate. Sammensatte blad bestående av flere bladplater. Finnerte blad med småblad langs en akse (rachis). Likefinnet hvis ikke noe blad i enden og like antall. Ulikefinnet med ulikt antall småblad og ett i enden. Hvis finnet blad blir finnet en gang til er det et dobbeltfinnet blad. Koblete blad flere bladplater koblet i samme punkt.

Bladrand med tenner, sagtannet, helrandet, lappet, fliket. Form kan variere fra rundt, pilformet, nyreformet, eggformet, hjerteformet, nålformet, trådformet.

Butt spiss. Bladbasis skjev tverr, avrundet. Slyngtråd.

Bladtyper og bladbasis. Heterofylli vil si blader med ulik morfologi på samme plante (*Sassafras* i Lauraceae). Bladkant kan være helt, bølget eller tannet.

Trikomer er en- eller flercellede utvekster fra epidermisceller. Emergenser kan i tillegg komme fra subepidermalt vev. glabrescens mangler hår, pubescens med hår og glaucescens med blågrå voks. Indumentum er et dekke med hår. Kjertelhår eller ikke-kjertelhår. Saltsekresjon hos melde (*Atriplex*). Greinet eller enkle.

Luftvev (aerenkym) finnes i bladstilkene hos vann- og sumpplanter f.eks. nøkkerose (*Nuphar* og *Nymphaea*) og pilblad (*Sagittaria*); og i blader f.eks. tjønnaks (*Potamogeton*), dunkjevle (*Typha*), brudelys (*Butomus*), vassgro (*Alisma*) og piggknopp (*Sparganium*). Stengler kan også være gjennomvevd av luftfylte ganger f.eks. siv (*Juncus*), elvesnelle (*Equisetum fluviatile*). Hos vannplanter vil bladene ha forskjellig form avhengig av om de befinner seg over eller under vann (heterofylli).

*Welwitschia mirabilis* med to store varige blad. Bladene kan være ettårige eller flerårige.

Fyllotaksis. Flere blad i krans: motsatte blad. Bladene befinner seg i lengderækker (orthostik) 2,3-4 blad i kransen. Bladene i skrue.

Margmeristem gir marg

Makrofyll med greinete ledningsstrenger. Mikrofyll med en ledningsstreng hos kråkefot.

Løv er vanlige fotosyntetiserende blad. Lavblad ved bladbasis. Brakter (høyblad) kan være små brakteoler eller større. F.eks. skrubbær (*Cornus suecica*), julestjerne.

Hos vindusblad (*Monstera*) er det hull i bladene laget ved kontrollert celledød.

Hos *Acacia* utvikles bladstilken til et **fyllodium**.

Hos arter i sypressfamilien (Cupressaceae) f.eks. *Thuja* og *Cupressus*, finnes det skjellformede taklagte blad.

Tilpasset vanntilgangen som xeromorfe (tørketålende) trekk som tykk epidermis dekket av kutikula og voks. Sammenrullede blad med spalteåpninger i hulrommet. Dekket av trichomer som skaper luftstille rom og reflekterer lys. Bladstilling for mye/liten innstråling. Stive, blanke, læraktige blad. Vannplanter.

## Røtter

Rotas oppgave er å feste planten til jorda, virke som oppsugingsorgan for vann og næringssalter fra jorda og som lagringsorgan hos flerårige planter. Røttene finnes vanligvis under jordoverflaten. Røttene mangler blader, nodier og internodier. Røttene har en strømlinjeformet akse uten vedheng ved penetrering av jorda. Greining av røttene skjer i god avstand fra rotspissen, hvor siderøtter dannes i modne områder som har sluttet å strekke seg. Røttene lages fra en **rotmeristem**. Apikalt rotmeristem er dekket av en rothette som lages av rothettestamceller. Rothetta beskytter meristemet på veien ned i jorda, slites av, og er ikke en permanent del av rota. Rothetta har en sentral sone kalt **kolumella** som inneholder statolitter som registrerer retningen for tyngdekraften. Et **rolig senter** er en sentralt plassert del av meristemet hvor cellene deler seg med en mye lenger tidssyklus. Hvis f.eks. cellecyklus varer i 400 timer i rolig senter, mens celledelingen (doblingstiden) tar bare 10 timer i rothetta betyr dette at en rothettecelle har delt seg 40 ganger og produsert  $1.1 \times 10^{12}$  celler, mens en celle i rolig senter bare er ferdig med en celledeling. Med radioaktiv tritiummerket thymidin vil celler som har DNA replikasjon og aktiv deling inkorporere radioaktiv thymin i kjernen. Ved mikroautoradiografi vil filmen bli svart der hvor det er aktiv celledeling, mens den er blank i rolig senter.

Røttene er i spissen dekket av en **rothette** som beskytter det apikale rotmeristem. Rothetta skiller ut karbohydratslim (mucigel) som gir smøring slik at rota glir lettere gjennom jorda, beskytter mot uttørking, og letter overføring av mineraler. Organiske stoffer fra røttene som skilles ut i jorda gir en rik mikroflora og mikrofauna rundt røttene. og virker som et mikromiljø for mikroorganismer.

Det er overlappende soner: rothettesone, meristemsone med rotapikalt meristem som danner primærrot, strekningssone med raske cellestrekning, og noen celler fortsetter å dele seg, samt en modningssone med differensiering. Veksten er begrenset til rotspissen, inkludert spissen av siderøtter. I en sone bak rotspissen er endodermisceller utformet som rothår. Rothårsonen gir stort overflateareal på røttene. **Siderøtter** (lateralrøtter) utvikles endogent fra **pericykel** innenfor endodermis. Siderota vokser gjennom cortex og epidermis og lager en ny vekstakse

Når et frø spirer kommer rota først ut av frøet og danner en **kimrot**. Kimrota kan være varig som hos tofrøbladete planter, og gir basis for rotutviklingen og danner en

**pelerot** med en hovedakse som vokser i tykkelse og fra denne vokser det ut siderøtter. Hos arter i soleiefamilien (Ranunculaceae) og hos enfrøbladete planter som f.eks. gras er kimrota lite varig og det utvikles en **knipperot** bestående av omtrent like store røtter med samme diameter som kommer ut fra basis av stengelen.

Røtter som utvikles fra en stengel kalles **adventivrøtter**. Navnet adventiv refererer seg til at de dannes på et uvanlig sted. Enfrøbladete planter har 3-6 primære rotakser som kommer ut fra frøet, og seinere dannes adventivrøtter (nodale røtter) som greiner seg og gir knipperot. I røttene utvikles floem raskere enn xylem siden røttene har behov for assimilater fra fotosyntesen i skuddet for å kunne vokse.

Røtter kan være utformet som et oppsugingsorgan (haustorium) hos parasitterende planter f.eks. misteltein (*Viscum album*) og skjellrot (*Lathraea squamaria*). I de fleste tilfellene danner røtter symbiose med sopp, ektotrof eller endotrof **mykorrhiza**.

På sumpmark og på slamrik oversvømt jord kan det bli mangel på oksygen til røttene. For å kompensere for dette har røttene utviklet luftfylte ganger med luftvev (aerenkym). Mangrovetrær bl.a. *Avicennia* og *Sonneratia* får tilført oksygen til røttene ved hjelp av **ånderøtter** (pneumatoforer) som vokser oppover mot og over vannoverflaten (negativ gravitropisk). Ånderøtter i hundrevis som snorkler i med porer og luftganger er forbundet med rotsystemet. Mangrove f.eks. *Rhizophora* har også **støtterøtter**. **Mangrove** i tidevannsbeltene langs kysten i subtropiske og tropiske områder hindrer erosjon, beskytter kysten og fanger opp leirsedimenter med ånde- og støtterøttene. Planter som lever i sjøvann opplever fysiologisk tørke. Disse må ha et lavere vannpotensial i rotcellene enn i vannet omkring røttene for å kunne ta opp vann. Arter som *Avicennia* og *Aegiceras* skiller ut overskudd av salt gjennom saltkjertler på bladene. *Rhizophora*, *Lumnitzera* og *Sonneratia* er ultrafiltrere som holder  $\text{Na}^+$  ute og har lite salt i xylemvæsken. Mangrovene må tåle endringer i saltinnholdet i vannet, bl.a. i regntiden med mye ferskvann fra slamrike elver. Mange mangrover kan imidlertid vokse i ferskvann bl.a. *Bruguiera*. Mangrovene *Bruguiera* og *Ceriops* har knerøtter som vokser horisontalt, men som lager med mellomrom en kneformet bøy over vannet. Disse virker både som ånde- og støtterøtter. Sumpsyppress (*Taxodium distichum*) har også knerøtter. Mangrovetreet *Xylocarpus granatum* har plate- eller plankeformete røtter som vokser vertikalt.

Banyantreet (*Ficus benghalensis*), opprinnelig voksested i India og Pakistan, ofte plantet rundt Hindu- og Buddhist-templer, har luftrøtter som henger ned fra greinene. Disse blir røtter når de treffer bakken og virker som vertikale støtterøtter, noe som kan gi treet en betydelig omkrets. I tillegg har stammen brettøtter. Støtterøtter laget fra luftrøtter finnes også hos gummitreet (*Ficus elastica*). Det fortelles at Aleksander den store hadde 7000 soldater i skyggen av ett Banyantree. Luftrøtter finnes også hos vindusblad (*Monstera*). Hos orkidéer som lever som epifytter i tropisk regnskog er luftrøttene dekket av en gråhvitfarget flerlaget epidermis med døde celler med fortykkete vegger, kalt velamen, som kan absorbere vann.

Kvelerfiken (*Ficus aurea*) og trekveler (*Clusia rosea*) har klebrige frø som spres med fugler. Frøene spirer høyt oppe i trærne i regnskogen og sender luftrøtter ned mot bakken. Det dannes en nettverk av røtter som kan vokse sammen og når disse når bakken vokser det opp en stamme på vanlig måte. Treet som kveleren klenget seg til blir skygget vekk og dør pga. rotkonkurranse.

Berglette (*Hedera helix*) og *Philodendron* har klatrerøtter på stengelen, altså adventivrøtter. Hos mais virker adventivrøttene som støtterøtter. Deler av rota kan utvide seg til en rotknoll med opplagsnæring. I noen tilfeller inngår deler av stengelen (hypokotyle) i rotknollen. Nytterotvekster er vanligvis pelerøtter med opplagsnæring fra toårige planter. Røtter som regulerer dybden den vokser med kan få en rynket overflate.

Noen planter er uten røtter som f.eks. spansk mose (*Tillandsia usneoides*) i ananasfamilien (Bromeliaceae). Navnet har den fått fordi den ligner på en lav (*Usnea*), og den henger ned fra greiner på samme måte. Den er grå i tørr tilstand og lys grønn når den er våt. Andre planter uten røtter er vannplanter som flyter i vannmassene f.eks. blærerot (*Utricularia*).

Rotoverflaten på en urtaktig plante er ca. 100-300 m<sup>2</sup>. En ørkenplante som *Prosopis* har røtter som går 50 meter ned til grunnvannet. Hos ettårige går rota fra 0.1-2 meter dypt og lateralt fra 0.3-1 meter. Evne til opptak og vann med mineralnæring er avhengig av et stort og velutviklet rotsystem.

## Stengel

Stengelens oppgave er å heve blad, blomster og frukt, og består av nodier med bladfester og akselknopper, atskilt av internodier. Sidegreiner anlegges fra ytterkant av stengelen. Ledningsvevet i ytterkant av stengeltverrsnittet hos tofrøbladete, over hele tverrsnittet hos enfrøbladete urter. Hos flerårige xylem innerst og floem ytterst, dekket av en periderm.

**Løk** er en kort underjordisk stengel dekket av kjøttfulle blad (løk skjell) eller bladbasis. **Kormus** kort underjordisk stengel dekket av tynne tørre blad f.eks. krokus (*Crocus*) og *Gladiolus*. **Rhizom** (jordstengel/rotstokk) er en underjordisk stengel som kan bære skjellaktige blad. En ekte rot vil aldri bære blad. Rhizomet kalles utløper hvis det vokser over bakken. Potet er en stengelknoll. Kveke, hvitveis, konvaller med rhizom. Hos kaktus er det stengelen (**fyllokladium**) som blir fotosyntetiserende og nålene er omdannede blader. Sukkulente med lagring av vann i stengel.

Sifonostele finnes i stengler med marg. Ataktostele hos enfrøbladete. Eustele med atskilte ledningsstrenger. Trær og busker har en treaktig stengel. I en trestamme kan det innerst være en kjerneved og ytterst en splint. Sibirsk lerk (*Larix dahurica*) har varig trevirke. Det samme gjelder eik (*Quercus*).

## Potet - en stengelknoll

Potetene ("jordepler") lages ikke fra røtter som man skulle tro, men fra en underjordisk stengel. Under betingelser hvor det ikke induseres knoller kan de underjordiske stenglene vokse oppover og danne nye skudd. Under knollinduserende betingelser f.eks. ved korte dager starter spissen av en underjordisk stengel å danne en oppsvulming. Denne oppsvulmingen får jordstengelsen til å slutte å strekke seg og

celler fra marg og cortex deler seg og vokser i størrelse og danner til slutt en potet. Høye konsentrasjoner med nitrogen og høy temperatur er faktorer som hemmer dannelsen av potetknoller. Korte dager, høy lysintensitet og høy konsentrasjon av sukrose i planten er faktorer som fremmer dannelsen av knoller.

## Andre lagringsorganer

Planter som skal leve fra år til år må ha en form for opplagsnæring. Den kan ligge i frøene, men også i en krypende jordstengel hos kveke. Knoppene på trær og busker har for liten plass til å lagre større mengder niste, så i dette tilfellet er det stamme, rot og greiner som er spiskammeret. Kulturplantene har mange former for lagringsorganer. Det er naturlig siden det er disse som vi bruker til mat. Det er som regel rota eller stengelen som svulmer opp. Hos reddikk er det den delen av stengelen som ligger mellom frøbladene og rota (hypokotyle) som svulmer opp og blir tykk og rund. Rota med sidegreiner kommer under selve reddikken. Neper og rødbeter er laget på samme måten. Poteter er også en del av stengelen som eser opp og blir fylt av stivelse. Alle disse grønnsakene kalles stengelknoller. Gulrot og forsåvidt røttene hos andre skjermplanter betraktes som en pelerot, men så enkelt er det ikke. Den øverste delen av gulrota, den som mangler siderøtter, er egentlig en del av stengelen. Den tykke sentrale delen av gulrota består vesentlig av sekundært xylem, og fra denne kan det vokse ut anlegg til siderøtter. Utenfor den sentrale delen med sekundært xylem er det et vaskulært kambium, og dette avsetter sekundært floem utover, som også inneholder floemparenkym. Ei ferdig utviklet gulrot har ikke cortex og ikke epidermis, men er på yttersiden dekket av periderm. Kålrot kommer litt i en mellomstilling. Den nederste rotfylte delen på kålrota er en vanlig rot. Så følger et oppsvulmet parti mellom rot og kimblad som hos reddikk. Ser man nøyerer etter på den øverste delen av kålrota er det rester etter blader som gir et ruglete utseende. Dette er en del av stengelen som ligger over kimbladene og før man kommer til de ordinære bladene som har est opp. Knollselleri er laget på samme måten. Bladene på knutekål viser at denne tilsvarer den øverste delen av kålrota, altså en oppsvulmet stengel over kimbladene (frøbladene).

## Blomst - reproduksjonsorgan

Blomsten som deltar i plantenes reproduksjon (forplantning) dannes fra et **blomstringsmeristem** og består av omdannede blader festet til en **blomsterbunn** (torus/receptaculum). Omkring de reproduktive delene, det hannlige **andrøsiet** og hunnlige **gynøsiet**, er det et **blomsterdekke** (perigonium). Hvis blomsterdekkbladene er like (enkelt blomsterdekke) kalles de tepaler f.eks. hos tulipan (*Tulipa*) og hvitveis (*Anemone*). I et dobbelt blomsterdekke finnes det grønne **begerblad** (sepalum) og **kronblad** (petalum) med andre farger som danner en krone (corolla). Utformingen av blomsterdekke henger nøye sammen med pollineringsbiologien til blomsten. Blomsterdekke kan beskytte andrøsiet og gynøsiet, virke som tillokking av pollinerende insekter, fugl eller pattedyr. Blomsterdekkbladene kan være mer eller



mindre vokst sammen (connatus), og kalles symtepal, symsepal eller sympetal etter om det er henholdsvis tepaler, sepaler eller petaler som er vokst sammen. Knoppleiet (aestivatio) er plasseringen av blomsterdekket før knoppen springer ut. Blomsterdekket kan være festet under, omkring eller over fruktknuten. Blomsten kan ha varierende antall symmetriplan. en radiærsymmetrisk regelmessig blomst kalles stråleformet (aktinomorf) og har flere symmetriplan. En ensymmetrisk uregelmessig blomst kalles zygomorf. To eller ingen symmetriplan er mer sjeldent.

## Andrøsiet (pollenblad) - den hannlige delen av blomsten

Pollenkornet er den hannlige gametofyten. En **pollenknapp** (anthera) festet til en **pollentråd** (filament) består av to halvdelar (pollensekkpar) (theka), hver med to **pollensekker** (pollenkammer). Filamentet er festet til et **pollenknappbånd** (connectivum). Hos gras er filamentet festet midt på knappbåndet slik at pollenknappen kan vippe fram og tilbake i vinden og spre pollen. Pollenknappene kan åpne seg innover mot blomsten (introrsum) eller utover (extrorsum). I sentrum av hver pollensekk er det en samling celler kalt **mikrosporemorceller** omgitt av tapetvev (tapetlag). Mikroporemorcellen gjennomgår meiose som gir fire haploide mikrosporer, hvorav alle utvikles til pollenkorn. Den indre celleveggen i pollenkornet kalles **intine** og har lik sammensetning som primærveggen. Den ytre veggen kalles **exine** og inneholder **sporopollenin**. Kallase er et enzym som bryter ned kallose og skilles ut fra tapetlaget. Kallase er nødvendig for at pollenkornene skal skille lag.

Pollenkornet består av to celler, en **vegetativ celle**, som pollenslangen utvikler seg fra, og en **generativ celle** som gir spermceller. Den generative cellen har halvmåneformet noe forlenget form. Vegetativ og generativ celle oppstår som resultat av mitotisk deling av mikrosporen. Den generative cellen blir liten på grunn av asymmetrisk plassering av spindelapparatet; og atskilles fra den vegetative ved en tynn vegg eller bare plasmamembranen. I et stadium av pollenutviklingen vil den generative cellen dele seg via mitose og hver av de to dattercellene differensieres til spermceller. Dette siste skjer ofte når pollenslangen vokser ned gjennom griffelen. Det finnes både bicellulært og tricellulært pollen. Alle spermceller hos angiospermene er ikkebevegelige og transporteres passivt ved hjelp av **pollenslangen**. Den generative cellen mangler mitokondrier og kloroplaster og disse organellene nedarves fra den hunnlige delen (maternalt).

Pollen har spalter (aperturer) i veggen hvor pollenslangen kan vokse ut. Colpat/sulcat hvis en eller flere furer, porat hvis ett eller flere hull og colporat hvis både furer og hull. Enfrøbladete har ofte monosulcat pollen. En stor gruppe angiospermer kalt eudicoter har tricolpat pollen. Overflaten til pollen, exine, er ofte glatt på pollen som spres med vinden, men kan ha utvekster, torner hos pollen som fester seg til insekter eller dyr. Pollen kan være spiredyktig i bare noen timer, eller for år hvis riktig lagret.

I noen tilfeller kan andrøsiet eller gynøsiet være festet til en stilk inne i blomsten kalt henholdsvis androfor eller gynofor, hvis begge med stilk kalles den en androgynofor.

Hos noen planter kan filament og griffel vokse sammen og danne en griffelstøtte (androstylum). Pollenblad kan være sterile og danne staminodier, eller være kronbladaktige (petaloide). I fylte blomster f.eks. roser og nellik er pollenblad omdannet til kronblad.

## Gynøsiet (fruktblad) - den hunnlige delen av blomsten

Den hunnlige delen av blomsten er et fruktblad bestående nederst en fortykket **fruktknute** (ovarium), og øverst et **arr** (stigma/pollenfanger), atskilt av et mellomstykke av varierende størrelse kalt **griffel** (stylus). Fruktbladene kan være frie eller sammenvokste, og antall arr gjenspeiler antall fruktblad. Fruktknuten kan inneholde ett eller flere rom med **frøemner**. **Embryosekken** er den hunnlige gametofyten og den ligger i et frøemne. **Frøemne** utvikles fra epidermisceller og holdes i et hulrom i **fruktknuten** festet til den indre overflaten med en kort stilk kalt **funikulus** (frøstreng/navlestreng). Frøemnet er festet til en del av fruktknuteveggen kalt **placenta**. (frøstol). Placenta med frøemner kan ha forskjellig plassering i fruktknuten f.eks. veggstilt (parietal), sentralt vinkelstående, fritt sentralt eller basalt. Utviklingen styres av transkripsjonsfaktorer. Når frøemnet vokser blir en celle til **megasporemorcelle** som gjennomgår meiose. Dette gir fire haploide celler, men bare en av disse overlever. De andre desintetgrerer ved kontrollert celledød (apoptose) og den overlevende cellen gjennomgår tre mitotiske delinger og danner embryosekken - den hunnlige gametofyten.

Et frøemne hvor funikulus og akselen på frøemne står på en rett linje kalles ortotropt. Står frøemnets akse vinkelrett på funiculus kalles det kampylotropt og er vinkelen mer enn 90 grader slik at frøemnet er bøyd nedover kalles det anatrop.

## Blomsterstander

Et skudd med flere blomster. Forskjellig utspringningsrekkefølge. Forskjellige typer blomsterstander som monopodiale: aks (kornslag), skjerm (skjermplantefamilien), klase, kolbe, kurv (kurvplantefamilien), hode (piggknopp)  
Sympodiale: sikksakkkvast, skruekvast, gaffelkvast, vifte (rhipidium), sigd (drepanium),  
Sammensatte blomsterstander med delblomsterstander: topp, krans.

## Generasjonsveksling, befruktning, embryogenese, frøutvikling og spiring

Alle organismer som har overlevd evolusjonen til vår tid har et effektivt reproduksjonssystem. Livssyklus hos plantene består av generasjonsveksling - en haploid fase kalt gametofytt generasjon alternerer med en diploid fase kalt sporofytt

generasjonen. Gametofytten er den seksuelle generasjonen og den reproducerer seg med gameter eller kjønnsceller, men reproducerer seg ikke direkte. Isteden sammensmelter gametene til en zygote som resulterer i en sporofytt. Sporofytten reproducerer seg heller ikke direkte, men lager aseksuelle reproduktive celler kalt sporer som utvikler seg til gametofytt. Sporofytt- og gametofytt generasjonen alternerer og reproducerer hverandre.

## Livssyklus hos bregner

Gametofytten hos bregner vokser grønnfarget, liten og uanselig på bakken. Det vi omtaler som bregne er sporofytten. Sporofytten lager sporer i **sporangier**. Bregnene deles inn i to grupper som atskiller seg i utviklingsprosessen som fører fram til sporer:

- 1) Eusporangiate bregner f.eks. marinøkkel og ormetunge.
- 2) Leptosporangiate bregner som er mest vanlig.

Hos leptosporangiate bregner lages sporangiene på undersiden av blad i spesielle regioner kalt **sori**. Hvert sporangium kommer fra en enkelt celle, som deler seg, vokser og blir til en differensiert flercellet struktur. Når sporangiet er ferdig utviklet består det av en sfære av celler festet med en stilk til bladet. En celle sentralt plassert i sfæren blir differensiert til den primære arkesporcellen som ved flere mitoser gir 12-16 **sporemorceller**. Sporemorcellene gjennomgår meiose og danner tetrader med **haploide sporer**. Når sporene er modnet atskilles de og omgis av en tykk vegg. Sporene faller ned på bakken og vil spire i et fuktig miljø. Celledelingene i sporen vil lage et langstrakt filament, men er det blått lys tilstede vil celledelingplanet til den apikale cellen endre seg slik at den danner en todimensjonal **gametofytt**. Når gametofytten er ferdig utviklet er den flat, hjerteformet og ca. 1 cm i diameter og kalles prothallus. Når gametofytten modnes dannes det hunnlige og hannlige reproduktive organer kalt henholdsvis **arkegonier** og **antheridier**. Antheridene finnes på den nedre delen av gametofytten og arkegoniene mer mot den andre enden. Noen celler i antheridene differensierer til bevegelige **spermceller** med flageller. I arkegoniet utvikler en celle seg til et egg. Befruktningen skjer når den bevegelige spermcellen svømmer opp halsen i arkegoniet og når fram til og fusjonerer med egget. En **zygote** dannes etter sammensmelting mellom egg og spermcelle. Zygoten gjennomgår embryogenese i arkegoniet og vil under gunstige forhold utvikle seg til en diploid sporofytt.

## Livssyklus hos angiospermer

Bregnene har ikke vært så suksessfulle som angiospermene når det gjelder utbredelse. Bregnegametene ligger ikke beskyttet, og vann er nødvendig for å få overført spermcellene til egget. Hos angiospermene er gametene omgitt av beskyttende strukturer. Embryo ligger beskyttet inne i et frø med opplagsnæring til kimplanten og frukten deltar i spredning av frøene. Også hos angiospermene er sporofyttgenerasjonen dominerende, men gametofyttgenerasjon er ennå mer redusert i forhold til bregnene og lever parasittisk på sporofytten. Angiospermene har to

morfologisk forskjellige gametofyttgenerasjoner i blomsten, den hannlige og hunnlige.

## Livssyklus hos gymnospermer

Hos gymnospermene ligger frøemnet åpent og nakent når det er klar for pollinering. Hos cycadéer er frøemnet plassert på et omdannet blad i en enkel kongle. Hos bartrærne sitter frøemnene på kongleskjell ved aksilen i akselen til en sammensatt kongle. Hos ginkofytter, pseudofytter og barlind sitter frøemnet på en stilk. Pollen finnes i pollensekker på modifiserte blad på enkle pollenkongler med en akse.

Utvikling av en pollenkongle og frøkongle hos furu (*Pinus*) skjer på sommeren (1. år). Deretter går de inn i en hvileperiode den etterfølgende vinter og neste vår skjer det meiose og utvikling av hannlig og hunnlig gametofytt. Denne våren skjer det pollinering (2. år) og hunnkonglen utvikles noe, men først våren etter (3. år) skjer det befruktning og embryogenese og frøutvikling. Frøene blir modne på ettersommeren og høsten.

## Pollinering og befruktning

Pollinering er overføring av pollen fra pollenbærer til arr. Pollineringen skjer med vind, insekter, dyr og fugler. Det er to hovedtyper arr: tørre og våte arr. Våte arr f.eks. hos løvemunn og liljer består av celler som produserer glykoproteiner, slim og næring som er nødvendig for at pollenkorntet skal spire. Tørre arr er evolusjonsmessig mer avansert og finnes hos gras, kål og trær. Griffelen kan være åpen eller lukket. En åpen griffel har et hulrom i midten med indre epitelceller dekket med polysakkarider, lipoproteiner, og glykoproteiner. En lukket griffel har et transmitterende vev som leder pollenslangen. Pollenslangen vokser i spissen. Veggen i pollenslangen inneholder ikke cellulose, men kallose som er et  $\beta$ -1,3-glukan. Kallose lages i Golgiapparatet og transporteres i form av vesikler til spissen av pollenslangen. Det er høy konsentrasjon av kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) i spissen av pollenslangen.

De fleste planter er selvsterile, det vil si at eget pollen ikke vil spire på eget arr, en egenskap som fremmer krysspollinering. Gener som bestemmer **cytoplasmatisk hannsterilitet** finnes i mitokondriene. Planter med genet *cms* har ikke levedyktig pollen, og egenskapen nedarves maternalt via mitokondriene. Programmert celledød kan gi prematur aldring av pollenknappen, og mitokondrier kan delta i programmert kontrollert celledød.

Gametofytt **selvinkompatibilitet** skyldes at et genprodukt fra den hannlige gametofytten reagerer med et genprodukt i det hunnlige vevet i griffelen. Interaksjonen kontrollert av et **S-locus** som har titalls forskjellige alleler i en naturlig populasjon. Hvis S-allelet er likt i pollen og hunnlig del vil ikke pollenslangen vokse og utvikle seg. Proteinproduktene fra S-allelet er basiske glykoproteiner eller enzymet RNase som spalter RNA. Ved sporofytt selvinkompatibilitet er det alleler i rester av sporofytten som sitter igjen på pollenkorntet som deltar. Kompatibelt pollen, som den hunnlige delen godtar, tar raskt opp vann og pollenslangen begynner å vokse etter kort tid. Det skjer en **dobbel befruktning** (syngami) ved at en spermcelle fusjonerer med egget

og gir zygote. Den andre spermcellen fusjonerer med to polkjerner og gir triploid endosperm. Både spermceller, eggcelle og sentralcelle er nakne protoplaster.

Hannsterile planter er mer kostnadsbesparende enn manuell fjerningen av toppen av plantene for å hindre selvpollinering i produksjonen av maishybrider. Tidligere ble hybridmais med cytoplasmatisk hannsterilt type *cmsT* (T for Texas) benyttet og dette genet laget et URF13 (13 kilodalton) som gir hannsterilitet. Det oppstod en sykdom ("Southern corn blight") som ødela store deler av hybridmaisavlingene. Dette skyldtes at soppen *Bipolaris maydis* syn *Cochliobolus heterostrophus* lager et HmT toksin som reagerer med URF13 og lager porer i den indre mitokondriemembranen. Nå benyttes genmodifiserte hannsterile planter basert på genene som koder for barstar og barnase.

Den hannlige gameten overleveres til frøemnet gjennom en rasktvoksende pollenslange fra det haploide pollenkorset. Pollen består av en stor vegetativ celle og en generativ celle eller to spermceller. Spermcellene lages fra mitotisk deling av den generative cellen. Når pollenkorset lander på arret lager den vegetative cellen en utvekst som blir pollenslangen som vokser gjennom det transmitterende vevet i griffelen ned til frøemnet. Pollenslangen avleverer de to spermcellene i embryosekken hvor de smelter sammen med henholdsvis eggcellen og sentralcellen. Veksten av pollenslangen er avhengig av et cytoskjelett av aktin. **Profilin** er et protein som binder seg til globulært aktin i pollenslangen og virker som et bindeledd mellom aktin og fosfatidylinositol. I noen tilfeller har flavonoler på utsiden av pollenkorset betydning for vekst av pollenslangen.

## Embryogenese

Sporofyten utvikles i tre stadier: embryogenese, vegetativ og reprodutiv utvikling, og det skjer morfologiske og anatomiske forandringer under utviklingen.

Sporofyttgenerasjonen starter med en zygote fra fusjon av en haploid spermcelle og eggcelle. Reprodutiv fase avsluttes med zygote, så starter prosessen på nytt.

Zygoten går gjennom en embryogenese og sammen med noe maternalt vev utvikles frøemnet til frø. Vegetativ fase starter med embryogenese. Embryogenese skjer inne i embryosekken, hvor en celle omdannes til et flercellet planteembryo.

Embryogenesen gir ikke direkte vev og organer, men en rudimentær plante med embryoakse, frøblad og en apikal-basal akse. Embryogenesen gir aksene til den nye plantekroppen med rot- og skuddmeristemer i hver ende. Embryogenesen, som varierer fra art til art, følges av vekst og utvikling av endospermen. Egget har polar struktur med en stor sentralvakuole ved mikropyleenden; og kjernen og det meste av cytoplasma i den andre enden. Polaritet er et utviklingsmønster hvor celler utvikles avhengig av plassering i embryo og danner en apikal-basal akse hvor plantehormonet auxin deltar. Embryo er fysiologisk adaptert til å tåle hvile og uttørking, og som respons på ytre og indre signaler kan gjenoppta veksten ved frøspiring.

Zygoten gjennomgår ulik celledeling som gir polaritet. Første celledeling av

assymmetrisk i rett vinkel på lengdeaksen som gir en apikal ende og apikalcelle med tett cytoplasma og en basal ende med basalcelle med stor vakuole. Apikalcellen danner proembryo før protoderm og suspensor utvikles. Utviklingen varierer hos forskjellige arter. Fra den apikale region er det en cellekvartett som utvikles til frøblad og skuddapikalmeristem. I midtregionen er det en cellekvartett som utvikles til hypokotyle, rot og resten av rotmeristemet. Basalcellen som inneholder vakuolen deler seg noen ganger i samme plan i rett vinkel på lengdeaksen og lager et filament med 6-9 celler kalt **suspensor**. Basaldelen av suspensor er ofte en større celle. I den andre enden av suspensor vil **hypofysis** og celledelinger i denne utvikles til kolumella, en sentral del av rothetta og rolig senter i rotanlegget. Dette er den eneste av basalcellene som bidrar til embryo. Suspensor fester embryo til det vaskulære vevet i morplanten.

Embryoet går inn i et dermatogent stadium hvor cellene deler seg antiklinalt og produserer et overflatelag av åtte celler som dekker de åtte indre - **globulære stadiet**.

**Hjertestadiet** av embryo har utviklet bladprimordiene til de to frøbladene, hvor det har skjedd rask deling på hver side av fremtidig skuddspiss som gir to frøblad og bilateral symmetri.

I **torpedostadiet** skjer celledeling i embryoaksen og videreutvikling av frøblad, hvor hypokotylen og rota kan gjenkjennes.

I **modningsstadiet** avsluttes embryogenesen. Embryo og frø taper vann og går inn i en hvileperiode med metabolsk inaktivitet.

I embryogensen hos arter i grasfamilien dannes det først et globulært stadium som går over i koleoptilestadiet med utvikling av det rørformete bladet koleoptile, skuddapikalt meristem og embryorot med rotapikalt meristem.

Hos f.eks. erter og bønner vil endospermvevet som omgir embryo i de tidligste fasene av embryogenesen forsvinne og frøbladene (kimbladene) fylles med opplagsnæring. Frøbladene fungerer som et oppsugingsorgan. Hos gras lages et aleuronlag med levende celler som omgir en stivelsesholdig endosperm hvor cellene gjennomgår kontrollert celledød (apoptose). Skutellum hos gras, som tilsvarer det andre frøblad hos de tofrøbladete), fungerer som et oppsugingsorgan for opplagsnæringen i endospermen. Frøet består av et embryo og opplagsnæring omgitt av frøskall. Ved frøspiring er embryohvilen brutt og lagringsreserver i frøblad eller endosperm mobiliseres.

Somatiske celler fra gulrot, soyabønne og mais kan gjennomgå somatisk embryogenese i vevskultur. Først oppformerer cellevev som gir kallas i nærvær av et syntetisk auxin 2,4-Diklorfenoksyeddiksyre. Deretter flyttes vevet til medium uten 2,4-D.

## Gener i embryogenesen

Utviklingskjebenen til de individuelle cellene er i et bestemt, men ikke helt fastlagt celledelingsprogram hvor det er cellelinjeavhengig og posisjonsavhengig signalmekanismer. Auxin virker som et morfogen som lager et kjemisk signal som gir

romlig informasjon via en konsentrasjonsgradient fra kilde til sink. En posisjonsavhengig utvikling via assymetrisk lokalisering av PIN, en familie med auxinanon effluksbærerproteiner gir en retningsbestemt transport av auxin. Det finnes mutanter hos vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*) som påvirker forskjellige sektorer langs lengdeaksen av plantekroppen, fra apikal til basal ende. Genet *GNOM* bestemmer aksial polaritet for de basale og terminale delene av embryo. *GNOM* koder for en guaninnukleotid utbytningsfaktor. Den homozygote mutasjonen *gnom* gjør at rot og frøblad ikke utvikles. *GNOM* deltar i den første celledelingen i zygoten og bestemmer fordeling PIN effluksprotein som styrer vesikler som frakter PIN som deltar i polar auxintransport. Brefeldin A hemmer vesikkeltransport og gjør at PIN ikke havner på rett sted.

*MONOPTEROS* er nødvendig for normal utvikling av rot og hypokotyle, og koder for en auxinresponsfaktor ARF transkripsjonsfaktor. Fenotypen av basalmutanten *monopteros* (*mp*) mangler hypokotyle og rotmeristem. Både *GNOM* og *MONOPTEROS* er nødvendig for aksial polaritet og vevsdifferensiering ved embryogenesen. *BODENLOS* (*BDL*) koder for et transkripsjonsrepressorprotein. Mutasjonen *bdl* ligner på *mp* hvor den basale delen av embryo mangler. *FACKEL* (*FK*) koder for en sterol-C<sub>14</sub> reduktase. *GURKE* (*GK*) koder for acetyl-CoA karboksylase som deltar i syntesen av meget lange fettsyrer og sfingolipider. Fenotypen av mutanten *fackel* (*fk*) mangler eller har kort hypokotyle og misformede frøblad. Mutanten *gurke* (*gk*) er agurkformet og den apikale delen danner ikke skuddmeristem og frøblad.

I meristemene i planter er det gener som styrer dannelsen av organprimordier, celledelinger i organer og opprettholdelse av meristemaktivitet. Genet *SHOOT MERISTEMLESS* i *Arabidopsis* uttrykkes i celler som gir promeristem i skuddet og er med å opprettholder sentralsonen i meristemet.

Transport av proteinene *SHORT ROOT* (*SHR*) og *SCARECROW* (*SCR*) er nødvendig for differensiering av cortex og endodermis. Begge koder for GRAS-transkripsjonsfaktorer. GRAS tilhører familien av *GIBBERELLIN-INSENSITIVE* (*GAI*) og *REPRESSOR OF GAI* 1,2 og 3 (*RGA*) samt *SHR*. Fenotypen av mutanten *scr* har røtter med ett celledag grunnvev, mangler stivelseskjede og endodermis/cortex blir spesielt utviklet. *SHR* transkriberes og translateres i stele, og *SHR*-protein fraktes via plasmodesmata til endodermis hvor det aktiverer *SCARECROW* (*SCR*). Flere utviklingsprosesser skyldes intracellulær transport av makromolekyler gjennom plasmadesmata, bl.a. *SHR*.

*ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3* (*ABI3*) og *FUSCA3* er nødvendig for start av hvile. *ABI3* koder også for lagringsproteiner.

*CLAVATA* 1,2 og 3 koder for reseptorkinaser. Binding av ligand til en reseptor på utsiden av membranen gir aktivering av en intracellulær kinase. Genet *CLAVATA* deltar i dannelsen av organprimordier i meristemet i *Arabidopsis*, og gir økt vekst siden cellene ikke differensieres. Mutasjon i *CLAVATA* gir ekstremt store meristemer og økt antall organdannelser. *CLV3* bindes ekstracellulært til *CLV1/CLV2*, noe som gir autofosforylering av cytoplasmadomene til reseptoren. *CLV1* koder for en leucinrik repetert kinase. Fosforylert P-*CLV1* binder seg til en kinase assosiert protein fosfatase *KAPP* og rhoGTPase. *WUSCHEL* (*WUS*) koder for homeodomene



transkripsjonsfaktorer og er nødvendig for å opprettholde antall stamceller. Samvirke mellom CLAVATA og WUSHEL opprettholder organiseringen i skuddmeristem. Genet *PHANTASTICA (PHAN)* hos løvemunn (*Antirrhinum*) koder for en MYB transkripsjonsfaktor og en mutasjon gjør at bladene blir nålformet. *PHAN* tilsvarer *ASYMMETRIC LEAVES1 (AS1)* i *Arabidopsis* som bestemmer over- og undersiden på blad. En av oppgavene til *PHAN* er å repressere *KNOX*-gener i blad.

Mikro-RNA er korte RNA (21-24 baser) som regulerer genaktivitet, og via komplementær basesekvens hemmer gentranskripsjon, øker degradering av transkripter eller hemmer translasjon.

I meristemet laget epidermis fra **protoderm, grunnmeristem** lager cortex, det vil si grunnvevet mellom ledningsstrenger og epidermis, og i røtter og hypokotyle lages endodermis. **Prokambium** lager ledningsvev, samt pericykel i røtter. *MERISTEM LAYER 1 (ATML1)* og *PROTODERMAL FACTOR 2 (PDF2)* i epidermis koder for transkripsjonsfaktorer. *CYTOKININ RESPONSE 1 (CRE1)* er nødvendig for utvikling av floem (silvev).

Den kuleformede grønnalgen *Volvox* er en svært enkel flercellet organisme. Den består av et ytre lag av opptil 4000 somatiske celler med to flageller som holdes sammen i et glykoproteinmatriks. Cellene ligner på den encellede grønnalgen *Chlamydomonas*. Innenfor den kuleformede overflaten er det opptil 16 større reproduktive celler kalt gonidier. Hver gonidium kan ved gjentatte celledelinger danne en ny *Volvox*-koloni som slippes ut fra foreldrekolonien som deretter dør. Hva er det som bestemmer om en celle skal bli somatisk celle eller et gonidium? Glykoproteinmatrikset inneholder feromoner som bl.a. omdanner aseksuelle celler til hann- og hunn-celler som brukes i seksuell reproduksjon.

## Frukt og frukttyper

Fruktens oppgave er å spre frøene. Fruktvekst og størrelse er korrelert med antall frø og fordeling av frø i frukten, siden endosperm og embryo produserer auxin.

**Achene** er en tørr liten nøttfrukt fra ett fruktblad som ikke åpner seg. Frøene omgitt av tynn tettsittende vegg. Vanlig hos starr (*Carex*), jordbær (*Fragaria*), solsikke (*Helianthus*), *Polygonum*, soleier (*Ranunculus*), syre (*Rumex*), og løvetann (*Taraxacum*), forøvrig vanlig i rose- og soleiefamilien.

**Bær** (bacca) har saftig kjøttaktig fruktvegg med fra ett til mange frø. Eksempler er *Annona*, carambole (*Averrhoa*), agurk (*Cucurbita*) hvor noen f.eks. kalabass har hardt skall, litchi (*Litchi*), banan (*Musa*) og appelsin (*Citrus*) med ikke spiselig skall, daddel (*Phoenix*), granateple (*Punica*), tomat (*Solanum*), bærlyng (*Vaccinium*), og vindrue (*Vitis*).

**Kapsel** (capsula) er en tørr frukt som åpnes på forskjellige måter (lokk, porer, oppsprekking) og inneholder få til mange frø. Hestekastanje (*Aesculus*), løk (*Allium*), løvemunn (*Antirrhinum*), *Aristolochia*, *Begonia*, *Eucalyptus*, perikum (*Hypericum*), syre (*Oxalis*), valmue (*Papaver*), fiol (*Viola*). Oppsprekkingen kan være septidic (skilleveggdelende) eks. søte (*Gentiana*), septifrag (skilleveggbrytende) eks. revebjelle (*Digitalis*) og mjølke (*Epilobium*), eller loculid (romdelende) eks. fiol

(*Viola*).

**Karyopse** (caryopsis) er en liten tørr frukt (skallfrukt) som er vanlig i grasfamilien (Poaceae) hvor frøet har vokst sammen med fruktknuteveggen.

**Nøtt** er en tørr frukt med en beinhard vegg laget av sklerenkym og som omgir ett frø, som hos kastanje (*Castanea*), hassel (*Corylus*), bøk (*Fagus*), og eik (*Quercus*). En eller flere av nøttene kan være omgitt av en cupula.

**Samara** er en vinget tørr frukt som inneholder ett, sjelden to frø. Bjerk (*Betula*), Casuarina, ask (*Fraxinus*), og alm (*Ulmus*).

**Steinfrukt** (drupe) er ytterst omgitt av en epikarp, etterfulgt av en vanligvis saftig og kjøttfull mesokarp og innerst en steinhard endokarp som omgir 1-2 frø med tynn vegg. Finnes hos kokosnøtt (*Cocos*), kristtorn (*Ilex*), valnøtt (*Juglans*), i slekten *Prunus* med arter som aprikos, fersken, kirsebær, morell, nektarin og plomme. Hos bjørnebær, bringebær og multe (*Rubus*) er det en samling med steinfrukter som lager en **samfrukt**.

**Belgkapsel** (folliculus) er en tørr frukt fra ett fruktblad som åpnes i en longitudinell sutur kalt buksømmen hvor frøene er plassert. Finnes hos arter i soleiefamilien (Ranunculaceae) med arter som akeleie (*Aquilegia*), ballblom (*Trollius*), bekkeblom (*Caltha*), og tyrihjelms (*Aconitum*), dessuten hos *Magnolia*, og *Nerium*.

**Belg** (legumen) er frukten i erteblomstfamilien (Fabaceae) og består av ett fruktblad som åpnes langs to longitudinelle suturer, kalt ryggsum og buksøm. Vevet i de to halvdelene av belgen er plassert slik at når det tørker dreies det spiralformet og presser frøene ut, noen ganger med eksplosiv kraft.

**Skulpe** (siliqua) er en frukt av to fruktblad atskilt av en skillevegg med frø langs kanten, og som er vanlig i korsblomstfamilien (Brassicaceae). I noen tilfeller kan skulpen deles i ledd som hos åkerreddik (*Raphanus*) og strandreddik (*Cakile*) for spredning via sjøvann.

**Spaltefrukt** (shizocarpium) er en tørr frukt fra to til mange fruktblad, som deler seg i segmenter (delfrukt) med ett frø (merikarp). Lønn (*Acer*), tranehals (*Erodium*), tvetann (*Lamium*), kattost (*Malva*), slavie (*Salvia*) og jernurt (*Verbena*). Forøvrig er spaltefrukt vanlig i skjermplantefamilien (Apiaceae).

Ananas (*Ananas*), brødfrukt (*Artocarpus*), fiken (*Ficus*) og morbær (*Morus*) er eksempler på **fruktstandfrukt** hvor frukten fra flere blomster og annet vev bla.a. fra midtstilken i blomsterstanden inngår i frukten. Hos eple (*Malus*) utvider blomsterbunnen seg og vokser omkring fruktbladene til en **pseudocarpus**, og restene av blomsten kan sees i enden av eplet motsatt av hvor stilken er festet.

Jordbær (*Fragaria*) er også en pseudocarpus hvor frøene (achener) er plassert utenpå jordbæret.

De rødfargete nypene på roser (*Rosa*) er laget fra en krukkeformet blomsterbunn og inneholder nøtter med lange grifler.

Den spiselige delen av fiken er et **synkonium**, som er en hul struktur med mange små enkjønnete blomster på innsiden. Blomstersamlingen er ikke en frukt. Fiken er monoik med enkjønnete hunntrær som lager fiken etter pollinering. Det finnes imidlertid partenokarpe fiken som er frøløse og ikke trenger pollinering. Hvis det skal skje pollinering trenger man caprifiken (geitfiken) og fikenveps (*Blastophaga psenes*). Caprifiken lager uspiselige synconier som inneholder fikenveps og hannblomster.

Geitfiken er egentlig en hermafroditt med hann- og hunnblomster. Hunnvepsen legger egg på innsiden av fruktknuten med kort griffel hos geitfiken. Egget klekkes til larve i fruktknuten og lever på cellevevet i embryosekken og nucellus. Ved metamorfose blir larven en veps. Hannvepsen gnager seg ut av fruktknuten og oppsøker fruktknuter med hunnveps og inseminerer disse. Hannvepsen mangler vinger og dør etter å ha gitt sperm til hunnvepsen. Hunnvepsen kommer ut gjennom ostiolen i synconiet, og på veien blir de dynket med pollen på vei ut. Hunnvepsen besøker deretter spiselig fiken og bringer med seg pollen, men de klarer ikke å legge egg i fruktknuten hos disse som har en lang griffel slik at eggleggingsbrodden ikke når ned i fruktknuten. En ulempe med insektpollinering er at vepsen kan bringe med seg sopp. På geitfiken er det synconier som dannes om høsten og lager overvintrende mummier med vepselarver.

Galil, J.: *Fig Biology*. Endeavour 1 (1977) 52-56.

Janzen, D.H.: *How to be a fig*. Ann.Rev.Ecol.Syst. 10 (1979) 13-51.

Frøene kan ha frøkappe (**arillus**) som dekker deler av frøet eller saftig frøskall. Arillus er en utvekst fra frøstreng (funiculus) eller det ytre integument (caruncle). Frøet har et arr kalt **hilum** hvor det har vært festet til funiculus. Frø i kurvplantefamilien (Asteraceae) kan ha en fnokk (pappus) som vokser ut fra randen av begeret og deltar i vindspredning eller dyrespredning.

## Juvenilt stadium, modning, aldring

Ungdomsfasen i en plantes livssyklus er ofte en fase hvor planten ikke blomstrer. f.eks. *Lunaria* blomstrer ikke før alderen er 7 uker.

Bladene kan ha ungdomsmorfologi som bergflette (*Hedera helix*) og *Sassafras albidum* hvor lappete blad med lobber er ungdomsblad og helrandet er eldre blad. Juvenil bergflette er klatrende med alternerende blad og uten blomster, mens adulte blad er ovale blad i spiral, opprett vekst og med blomster. Stikling tatt fra basis gir juvenil plante og stikling tatt fra spissen gir adult plante. Overgang fra juvenil til adult fase gir endring i bladmorfologi og fyllostaksis. I *Juniperus virginiana* er ungdomsbladene nålformet og de eldre skjell-lignende. Vannplanter kan ha forskjellig bladform avhengig av om bladene er over eller under vann.

*Acacia heterophylla* har unge blad med bladstilk og småblad. Når planten blir gammel får bladene bred bladstilk som danner et fyllodium istedet for blad.

Hedera helix	Juvenil	Voksen
Bladform	helrandet	innbuktninger (lobe)
Fyllotaxis	Alternerende	Spiral
Vekstform	Horisontal	Vertikal
Anthocyaniner	+	-
Luftrøtter	+	-
Rotingsevne	+	-
Blomster	-	+

I det tempererte området gir løvtrær vakre høstfarger. Endring i daglengde med kortere dager og lavere temperatur om høsten gir bladaldring og død hos løvfellende trær. Aldring er en aktiv utviklingsprosess kontrollert av plantens gener. Noen av de ressursene som er investert i bladet tas vare på av hydrolyttiske enzymer som bryter ned protein, karbohydrat og nukleinsyrer. Sukker, nukleosider, grunnstoffer og aminosyrer fraktes tilbake til greiner, stamme og rot via floemet. Avkastningen (absisjonen) skjer i spesielle celler i bladstilken som danner et **avkastninglag**. Nekrose er død ved forårsaket av fysisk skade eller mangelsymptomer. Aldring av hele planten etter en reproduksjonssyklus kalles monokarp aldring. Sesongvariasjon i bladaldring og sekvensiell bladaldring hvor bladene dør etter alder. Aldring av tørr og saftig frukt. Aldring av spesielle celler som vedrør og trakeider.

Først eldes kloroplastene. Det skjer katabolske prosesser og nysyntese av proteaser, nukleaser, lipaser og klorofyllnedbrytende enzymer.

Under aldringen skjer det nedregulering av gener og aldringsrelaterte gener skrur på. Slike gener er gener for ACC syntase, ACC oksidase, ribonuklease og flutamin syntetase for reassimilering av ammonium.

Aldringen i celler skjer i en programmert celledød, etterfulgt av biokjemiske og morfologiske endringer kalt apoptose. Nekrotiske flekker kan omringe et patogen.

Cytokininer forsinket aldring. Generelt har cytokininer og etylen motsatt effekt. Stoffer som forsinket aldring er sølvthiosulfat, aminoethoxyvinglycine og aminoxyacetat som påvirker etylen syntese.

Auxin-transport inhibitor er 2,3,5-trijodbenzosyre (TIBA). Gibberellinene er den eneste gruppen plantehormoner som har signifikant effekt på blomstringen

Blomster kan inneholde pollenblad og fruktblad. En monoik plante som mais har både hann- og hunnblomster på samme plante. En dioik plante har hann- og hunnblomster på separate planter. Tilførsel av auxin (virker via etylen) til agurk (*Cucumis*) ga økning i antall hunnblomster, mens gibberelliner ga økning i hannblomster. Samme effekten

finnes i *Cannabis sativa* hvor også cytokininer fremmer dannelse av hunnblomster

**Druser** er runde samle krystaller. **Rafider** er bunter med tynne nålformete krystaller av kalsiumoksalat. **Aciculare krystaller** er nålformete krystaller som ligger enkeltvis, ikke i brunter. I ved kan man finne prismatiske krystaller. Styloider er lange store krystaller. Krystaller med kalsiumkarbonat kalt cystolitter finnes i spesielle celler (litocyster). Kiselkrystaller finnes i celler kalt stegmata..

**Agamospermi** vil si at plantene lager embryo uten haploide gameter og befruktning. Diploide celler kan virke som magaspore. Fenomenet kalles partogenese. **Adventiv embryoni** hvor embryo utvikles fra en somatisk celle. Vanlig hos Citrus.

Botanikeren Christen Raunkiær oppdaget på begynnelsen av 1900 tallet at løvetann setter frø uten befruktning. Med en barberkniv kuttet han av alle pollenbærerne, arr og griffel og så at de fremdeles satte frø, et fenomen som seinere ble kalt **apomiksis**. Insekter som besøker løvetann kommer for å hente pollen og nektar, men har ikke noen bestøvingsfunksjon.

Sneller, psilotofytter,lycopodiofytter og bregner er homosporer og produserer sporer i sporangier. Gametofytten lever atskilt fra sporofytten og produserer både egg og spermceller i henholdsvis arkegonier og antheridier. Noen få lycopodiofytter og bregner er heterosporer og lager megasporangier som inneholder megasporer som utvikles til en megagametofytt. Mikrosporangier inneholder mikrosporer som utvikles til mikrogametofytter. Bartrær har bare arkegonier.

## Aldring av blad

Membranpermeabiliteten øker, proteolytiske enzymer som sure proteaser som har vært i vakuolen lekker ut i cytoplasma og gir nedbrytning av protein i cytoplasma og kloroplaster. Klorose indikerer at klorofyllnedbrytningen har startet. Sukrosemengden ut av bladet minker. ,mens innholdet av aminosyrer og grunnstoffer øker. Bladaldring kan også induseres av mørke, spesielt hvis bladet er tatt av planten. Cytokinin forsinker aldringen. Tropaeolum blad virker bra. Hos ettårige planter blir reprodutivvekst og fotosynteseprodukter frakts til frø og frukt, mens rotveksten stopper. Utviklingen av belger starter bladaldring ved å senke cytokininimporten til bladene. . Ved å fjerne belgene øker cytokinintransporten fra røttene. Grønne øyer som følge av soppangrep, parasittiske insekter og galledannelende fytopatogen bakterier som *Pseudomonas*. Bladaldring kan induseres av tørke, , av lav temperatur i kuldesensitive planter, mye lys kombinert med mangel på zink, magnesium og kalium. Veksten av sink vev og organer som røtter, skuddspiss, frukt og lagringsorgnaer kan reduseres av tilgangen av fotosynteseprodukter, kildebegrensning, eller pga av begrenset kapasitet i sinken til å utnytte fotosynteseproduktene sink begrensnig. Sink limitation kan være sakte floemutlasting, celledeling, lite antall lagringsceller, lav overføring av sukker til

stivelse. , lavt antall sinks, korn per aks. Kildebegresning avhenger av genotyp omgivelseser interaksjon og radiot mellom kilden bladareal til sinkstørrelse antall frukt per palnte. En landbruksvekst med høy høstningsindeks høy fruktvekst/total biomasse blir oftere source limited enn en geotype med lav høstningsindeks.

Omgivelsesfaktorer som tørke, ekstrem temperatur og næringsmangel i overføring fra vegetativ til generativ vekst.

Stengelen hos gress viktig lagringssted for fruktaner, gress i kaldt og temperert klima. polymerisert fruktose med kjedelengde på 3-8. Akkumuleres i stengel ved anthesis og brukes til kornfylling. Hvor lenge bladene sitter på planten også av betydning for source-sink.

Konkurransen mellom frukt/frø hos belgvekster og rotnknoller for nitrogenfiksering gjør at nitrogenfikseringen synker raskt ved frøsetting.

Plantene trenger lys, CO<sub>2</sub> vann og mineralnæringsstoffer for å vokse. Økning i disse fra begrensende mengde øker vekst og utbytte, men responsen minsker når tilgangen på vekstfaktor øker. Dette prinsippet ble kalt loven om minskende merutbytte, formulert av Mitscherlich 1954. Ifølge denne er utbytteresponskurvene for et mineralstoff asymptotisk når mengden av vekstfaktor øker. Stigningskoeffisienten i kurven representerer kravet planten har til faktoren.

## Fotoperiodisitet og blomstring

Mennesket lar seg fasinere av rik blomstringen enten det er fruktblomstring i Hardanger, kastanjeblomstring i Bygdøy alle, tuliplanblomstring i Nederland, eller feiring av kirsebærblomstring (Hanami) i Tokyo, med budskap om vår. Villblomstene har et artsavhengig blomstringstidspunkt fra tidlig vår til sein høst. Hvordan registrerer plantene årstid og tid på døgnet ? Hvilke signaler induserer blomstring ? Hvordan registreres blomstringsstimulus ? Hvordan omdannes induksjonssignalet til utvikling av blomsten ?

## Når skal en plante blomstre ?

Aldersutviklingen hos plantene kan deles i to faser:

1) Den vegetative hvor det skjer anlegg og vekst av blad, rot og stengel.

2) Den reproduktive hvor det lages blomster som fører til frukt- og frødannelse.

Plantene må oppnå en bestemt utviklingsalder før de kan blomstre. Noen arter må ha tilstrekkelig antall blad før blomstringsstimulus blir sendt. Noen **ettårige planter** blomstrer etter få uker for eksempel ugrasplanter. **Vinterettårige planter** som vårskrinneblom i Norge spirer om høsten og må gjennom en vernaliseringsprosess før de blomstrer neste vår. **Toårige planter** lager første året en rot eller stengelknoll med opplagsnæring og blomstrer året etter, men de fleste **flerårige planter** som trær og busker må igjennom en ungdomsfase (juvenilt stadium) før de kan blomstre. Det juvenile stadiet varer fra 5-10 år for furu og til 20-25 år for gran. Juvenil har forskjellig betydning hos urtaktive og treaktive planter. Blomstringen skjer på optimalt tidspunkt

og synkronisert blomstring for en art øker muligheten for krysspollinering. Tilgang på næring, spesielt nitrogen, kan påvirke blomstringen.

**Blomsterevokasjon** kalles prosessen hvor det apikale meristemmet omdannes til et blomstringsmeristem eller blomsterstandmeristem. En blomsterstand kan være satt sammen av hundrevis av enkeltblomster. I denne overgangen fra vegetativt til reproduktivt meristem medvirker daglengde (fotoperiode), temperatur (vernalisering), fytokrom, sirkadiske rytmer, kryptokrom, lyskvalitet, proteiner og transkripsjonsfaktorer, plantehormoner og næringstilgang og abiotisk stress. Skuddutviklingen består av en serie med regulerte overlappende program fra juvenilt til adult og deretter til reproduktivt stadium.

Blomsterinduksjon skjer når en tilstrekkelig mengde blomstringsinduserende substanser og betingelser er tilstede. Slike betingelser kan f.eks. være et minimumsantall vegetative nodier, eller at meristemmet gir blomstring etter en viss tid ved en indre kontroll og autonom regulering. Noen planter har obligate krav til omgivelsene for å kunne blomstre. Fakultative krav til omgivelsene fremmer blomstring, men blomstring kan også skje uten disse. Fotoperiodisitet og vernalisering er de to viktigste ytre signalene.

Apikalknoppen må gjennom to utviklingsstadier. Først må apikalmeristemmet være **blomstringskompetent**. Apikalmeristemmet må dessuten være **determinert** før det kan gå over til det neste utviklingsstadiet som gir blomstring. Når et meristem er blitt blomstringskompetent vil det få økt tendens til blomstring med økende alder og bladantall.

Følgende signalvei synes å gjelde:

Blomstringskompetent plante → induksjon (fotoperiode) → determinert meristem → hormonsignal → blomstring.

Endogent gibberellin kan kontrollere blomstring. Fjerning av røtter, vannstress og nitrogenmangel kan øke konsentrasjonen av gibberellin i cellevevet som gir blomstring.

Gibberellin er nødvendig for uttrykk av det determinerte stadiet.

Fotoperiodisme er måling av natt- og daglengde og gir mulighet til å bestemme årstid og sesongrespons. Fra ekvator mot nord blir dagen lenger om sommeren og dagen blir kortere om vinteren. I 1920-årene oppdaget amerikanerne Wightman W. Garner og Henry A. Allard ved U.S. Department of Agricultural Research Station, Beltsville, Maryland, at daglengden (fotoperioden) er avgjørende for når en rekke planter skal blomstre. De hadde en mutant av tobakk "Maryland Mammoth" som var 5 meter høy og ikke ville blomstre som de andre tobakksplantene. De tok den inn i drivhus og sent på høsten begynte den å blomstre. Forsøk ble også gjort med soyabønner av sorten "Biloxi". Disse ble plantet ut med 14 dagers mellomrom fra mai til juli. Alle blomstret samtidig i september selv om alderen på plantene varierte fra 60 til 120 dager. Både "Maryland Mammoth" og "Biloxi" trengte kort dag eller lang natt for å blomstre. Garner og Allard kunne dele plantene inn i grupper avhengig av hvilken daglengde og nettlengde som var nødvendig for å få blomstring. Cirkadiske rytmer deltar i



fotoperiodisk tidsmåling.

## Langdags-, kortdags- og dagnøytrale planter

Langdagsplanter (kornnattsplanter) må ha en daglengde som er lenger enn en viss kritisk lengde for å blomstre, og har egentlig ikke noe behov for en mørkeperiode. De fleste plantene som vokser i våre strøk er langdagsplanter. Gras, kornslagene, spinat, dill, reddik og bulmeurt er alle som regel langdagsplanter. Rødkløver lager tidlig om våren en rosett med blader, og når dagen har blitt lang nok starter strekningen av de blomstrende skuddene. Fioler er langdagsplanter som vanligvis krysspollineres. Imidlertid når dagene blir ennå lengere lages genetisk lukkede blomster uten farge som sikrer selvpollinering (kleistogame blomster).

Utløpere hos jordbær er under kontroll av daglengden og anlegges når daglengden er lenger enn 12-14 timer. Det finnes både **obligate** (kvalitative) langdagsplanter som har et absolutt krav til en riktig nattlengde, og **fakultative** (kvantitative) langdagsplanter har mindre nøyaktig krav, men blomstrer tidligere og rikere når nattlengden er korrekt eller hvis antall fotoperiodiske sykluser er mange.

Kortdagsplantene (langnattsplantene) blomstrer når dagen er kortere enn en bestemt kritisk lengde (kvalitativt), eller blomstringen akselleres (kvantitativt) ved korte dager. Kortdagsplantene har størst utbredelse i tropiske og subtropiske strøk. Mange av de vanlige stueplantene som julestjerne, ildtopp og azalea er kortdagsplanter. Andre eksempler er kaffe, ris, bomull, sukkerrør, hirse, mais og arter av *Chrysanthemum*. Flerårige gras som svingel, engrapp og hundegras trenger korte dager etterfulgt av lav temperatur (vernalisering) for å lage blomsteranlegg. Men for å strekke seg og blomstre trenger disse grasene lange dager neste vekstsesong, det vil si korte netter. Temperaturen kan innvirke på blomsterdannelsen. Julestjerne er et eksempel på en plante som er kortdagsplante ved høy temperatur og langdagsplante ved lav temperatur. Plantene har mulighet til å skille korte dager vår og høst fra hverandre ved at f.eks. juvenil fase ikke responderer eller det kan være koblet til temperatur. Det finnes både obligate og fakultative kortdagsplanter. Nattavbrudd med lys kan ødelegge for effekten av mørkeperioden hos kortdagsplanter. Nattavbruddet har størst effekt ved midten av mørkeperioden.

Amfifotoperiodiske planter blomstrer enten ved lang dag eller kort dag, men ikke midt i mellom.

De dagnøytrale plantene setter ikke noe spesielt krav til nattlengden og har således en autonom blomstringsrespons. Noen celler i det apikale meristemmet må på forhånd være programmert til å gi blomstring. Eksempler på dagnøytrale planter er vassarve, åkersvineblom, tunrapp, tomater og erter. I ørkenstrøk er det dagnøytrale planter som spirer og blomstrer etter nedbør.

Det skulle vise seg at det var nattlengden som var avgjørende for blomstring. Døgnet

består av en lys- og en mørkeperiode. Natlengden gir plantene et blomstringssignal tilpasset de lokale vekstforholdene. Det er ikke bare tiden fra soloppgang til solnedgang som bestemmer daglengden, men skumrings- og demringslyset er også aktivt. Fra en dag til uker med korrekt natlengde trengs for å få blomstring og antall dager varierer fra art til art. Når planten først er indusert til å lage blomster setter den ikke lengder noen spesielle krav til natlengden annet enn den må få nok lys til fotosyntesen. I definisjonen av kortdags- og langdagsplanter er det ingen absolutt daglengde i timer som avgjør hva som er kort eller lang dag (**kritisk daglengde**). Det er overlapp i kritisk daglengde for kortdags- og langdagsplanter. Noen kortdagsplanter vil blomstre under samme daglengde som noen langdagsplanter. Blir daglengden kortere enn kritisk daglengde vil man fortsatt få blomstring hos kortdagsplantene, men ikke hos langdagsplantene. De fleste langdagsplantene trenger mer enn 10-12 timers dag for å blomstre. Daglengden er forskjellig nord og sør i et langstrakt land som Norge, men plantene har tilpasset seg de lokale forholdene de vokser under.

Ett unntak fra denne inndelingen er planter som først trenger korte dager og deretter lange dager for å blomstre (dobbel induksjon) f.eks. hvitkløver som er kort- langdagsplante. Det finnes også lang-kortdagsplanter. Mange planter med arktisk utbredelse trenger korte dager for å utvikle blomsterprimordiene, men det blir ingen blomstring før dette følges av lang dag som gir strekning av blomsterstilken/antesis. Dette er også en dobbel induksjon. For arktiske planter vil den kritiske daglengden være fra 20-21 timer, noe disse plantene opplever som kort dag.

Betydningen av natten på blomstringen kan observeres ved å gi plantene nattavbrudd med lys. Lys i mørkeperioden hos kortdagsplanter hindrer blomstring. Hvis mørkeperioden hos en kortdagsplante blir avbrutt av et hvitt lysglimt, blir effekten av den lange natten opphevet. Derimot har en mørkeperiode i den opprinnelige lysperioden ingen effekt. Av slike forsøk ble det trukket den konklusjon at det egentlig er lengden av mørkeperioden som avgjør om man skal få blomstring eller ikke. Kortdagsplantene burde derfor kalles langnattsplanter og langdagsplantene kalles kortnattsplanter. **Klokkehypotesen** sier at daglengde måles ved å måle natlengden. Hvilke bølgelengder i det hvite lysglimtet gitt om natten er mest effektivt til å hindre blomstring hos kortdagsplanter? Fytokrom er en fotoreseptor i fotoperiodisme. Rødt lys (ca. 660 nm) er mest effektivt, men hvis rødt lys blir umiddelbart etterfulgt av mørkerødt lys (ca. 730 nm) blomstrer allikevel kortdagsplantene. Mørkerødt lys kan oppheve den hemmende effekten av rødt lys. Aksjonsspekteret for nattavbrudd følger absorpsjonsspekteret for fytokrom. Hvilket tidspunkt nattavbruddet skjer påvirker blomstringsresponsen slik at det må være en **endogen cirkadisk oscillator**. Hos langdagsplantene gir rødt lys om natten en økt blomstring. Hos kortdagsplanter akkumuleres et intermediat i mørke av tilstrekkelig varighet.

E. Bünning formulerte i 1936 en **koinsidensmodell** hvor lysfølsomheten for nattavbrudd har oscillasjoner, og evnen til å fremme eller hemme blomstring er avhengig av i hvilken fase lyset gis. Planten er følsom for lys i bare deler av dag-natt syklus. Lys i lyssensitiv fase fremmer blomstring i LDP og hemmer blomstring i KDP. Faseendringer inneholder begrepet subjektiv natt og subjektiv dag.

H. A. Bartwick og S.B. Hendricks, som arbeidet i Beltsville i Washington D.C, laget et

aktivitetsspektrum for frøspiring av salatfrø av sorten Grand Rapids. Studiene med rødtlyseffekter på spiring av salatfrø førte frem til oppdagelsen av et pigment i plantene kalt fytokrom. Navnet kommer fra gresk og betyr plantefargestoff. Fytokrom deltar i en rekke lysregulerte prosesser i planter, inkludert blomstringsinduksjon. Fytokrom er primære reseptor vist via nattavbrudd med rødt eller mørkerødt lys. Hos noen langdagsplanter deltar kryptokrom via CRY1 og CRY2.

## Bladene mottar lyssignalet

Signalet fra daglengden mottas og registreres av unge fullt utviklede blad, men responsen skjer i knoppene (apikale meristem). Det skjer en fotoperiodisk blomstringsinduksjon. Chailakhyan postulerte i 1936 at det måtte være et blomstringshormon kalt **florigen** som ble fraktet fra bladene til knoppene, selv om ingen hittil har funnet noe florigen. Podingsforsøk har vist at noe som tilsvarer et blomstringshormon må eksistere, og det ser ut til å være det samme hos alle planter. Et signal transporteres fra blad til skuddspiss i en fotoperiodisk induksjon. Podes et skudd fra en kortdagsplante som alt er indusert til å blomstre, på en ikkeindusert langdagsplante, vil også langdagsplanten begynne å blomstre. Hvis skudd av en dagnøytral plante (som alltid er indusert til å blomstre) podes på en kortdagsplante eller på en langdagsplante som ikke har fått noen daglengde som skulle tilsi blomstring, vil begge begynne å blomstre uansett daglengde. Det er fremdeles et åpent spørsmål hvorfor blomstringshormonet bare lages ved korte dager hos noen planter og lange dager hos andre, og ved enhver daglengde hos dagnøytrale planter. Blomstringshormonet er ikke et gibberellin, selv om gibberelliner er en gruppe plantehormoner som påvirker blomstringen. Både fytokrom og biologiske rytmer medvirker når det bestemmes når en plante skal begynne å blomstre. Etter hvert viser det seg at kandidaten for florigen er proteinet FT (FLOWERING LOCUS T) som fraktes fra bladene via floemet fram til det apikale meristemet.

## Vernalisering - lav temperatur og blomstring

Vernalisering, eller på russisk jarovisering - gjøre klart for våren, er en prosess hvor lav temperatur fremmer blomstring. Lav temperatur gir blomstringskompetens. De fleste av undersøkelsene vedrørende vernalisering ble utført av den herostratisk berømte biologen T.D. Lysenko rundt 1920-tallet på høstsorter av hvete og rug. Lysenko var påvirket av Lamarck og trodde ervervede egenskaper kunne nedarves. Det passet godt med det politiske system i Sovjetunionen på den tiden, høstsorter kunne omdannes til vårsorter etter kuldebehandling. Vi vet nå at det genetiske materialet blir ikke forandret, bortsett fra **epigenetikk** via metylering av baser i DNA eller metylering og acetylering av aminosyren lysin i histoner. Kromatin består av transkripsjonsaktivt eukromatin og inaktivt heterokromatin. Kovalent modifisering av histoner virker som en **histonkode**. Imbibert (hydrert) frø responderer på lav

temperatur (optimalt 1-8°C), og vernalisering kan skje på frøplantestadiet. Det er aktiv metabolisme ved lavtemperaturinduseringen. Effekten av kuldebehandlingen øker med varigheten av lav temperatur inntil en metning oftest etter flere uker inntil tre måneder. Det betyr at planten kan måle lengden av kuldeperioden. Tørt frø responderer ikke på vernalisering. Mangel på kuldebehandling for planter som trenger vernalisering gir bladrosetter uten strekning av blomsterstengel, eller medfører forsinket blomstring.

Vernaliseringskravet med lav temperatur er ofte lenket til krav om etterfølgende lang dag (dobbel induksjon). Høstsorter av rug og hvete (vinterrettårige) sås om høsten og utvikler seg til små planter som overvintrer og utsettes for lav temperatur. Først sommeren etter dannes kornaks. Sås de om våren rekker de ikke å sette aks før vinteren kommer. Det stedet som mottar lavtemperaturresponsen er knoppen, altså forskjellig fra fotoperiodisk respons hvor bladene mottar et riktig daglengdesignal. Kravet til lav temperatur kan være absolutt (obligat), men planter kan også blomstre raskere etter en periode med lav temperatur (fakultativt). Ettårige planter som fullfører livssyklus i løpet av en vekstsesong kan deles i **sommerrettårige** som ikke trenger lav temperatur og **vinterrettårige** som stiller krav til lav temperatur for å blomstre. Disse siste, f.eks. vårskrinneblom og vårrubblom, spirer om høsten og overvintrer som frøplanter. Temperaturkravet for denne siste gruppen er fakultativt dvs. blomstring kan skje uten lav temperatur, men det vil ta mye lenger tid.

Toårige planter kan ha kuldekrav for å blomstre. Hos toårige dannes første året en vegetativ bladrosett og en rot fylt med opplagsnæring. Neste vår dannes nye blad og et blomstrende skudd som strekker seg. Eksempler på slike planter er kål, borre og rotgrønnsakene gulrot og rødbete. Det finnes økolyter som reagerer forskjellig på temperaturbehandlingen. Den meste effektive temperaturen for å fremme blomstring er fra 0-8 °C. Perioden med lav temperatur som er nødvendig kan være fra dager til måneder avhengig av planteart. Sår man rødbeter så tidlig om våren at de får en kuldebehandling som kimplante kan de begynne å blomstre ("gå i stakk") samme året. Stokkløping kan også skyldes effekten av daglengde, for eksempel spinat eller salat som går i stakk.

Planten må sørge for at blomstringen skjer på en gunstig årstid. Dette kontrolleres av en utviklingsklokke sammen med ytre stimuli. Under vernalisering lages det en "mitotisk hukommelse" som lagrer informasjonen om den gjennomlevede lave temperaturen. Denne "hukommelsen" er en epigenetisk endring via metylering eller demetylering av baser i DNA eller metylerte/acetylerede histonproteiner. Gibberellin og noen mellomprodukter i gibberellinsyntesen kan erstatte vernalisering, noe som viser den nære sammenhengen mellom gibberelliner og blomstring. Høy temperatur for eksempel 35 °C like etter vernalisering kan oppheve effekten og gi **devernalisering** i meristemet.

I *Arabidopsis* uttrykkes genet *FLOWERING LOCUS C (FLC)* i apikalmeristemet i ikke-vernalisert skudd. *FLC* koder for et MADS-boksprotein og etter vernalisering er genet epigenetisk skrudd av. FT danner kompleks med FD, en basisk leucizipper. *FLC* represserer *FT*, *SOC1* og *FD* i det skuddapikale meristemet. *VRN2* (vernalization 2) virker som en Zn-finger.

## ABC-modell og homeotiske mutasjoner

Mye av kunnskapen om signalveien for utvikling av blomsten og blomstring kommer fra studier av vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*) og løvemunn (*Antirrhinum majus*). *Arabidopsis* har vegetativ vekst med fytomerer med meget korte internodier som gir en bladrosett. Et stengelprimordium i det apikale meristem danner en fytomer, bestående av meristem og en vegetativ del. Fra det vegetative meristem dannes det et primært **blomsterstandmeristem** som lager en blomsterakse med kauline blad og blomster fra **blomstermeristem**. Fra sideknoppene ved kauline blad dannes det sekundære blomsterstandmeristem. Blomsten hos angiospermene kan bestå av fire konsentriske ringer med blader. Fra ytterst til innerst: 4 grønne begerblad, neste krans med 4 hvite kronblad, deretter 6 (4lange+2korte) hannlige pollenblad som lager pollen og 2 hunnlige sammenvokste fruktblad med kort griffel og mange frøemner som inneholder egg i en embryosekk.

Johann Wolfgang von Goethe i framsatte i boka *Die Metamorphose der Pflanzen*. en hypotese om at alle delene av blomsten var blad som hadde fått forskjellig utforming. Kronblad, begerblad, pollenblad, fruktblad kommer fra små grupper av celler i blomstringmeristem, kalt **primordier** (l. *primordium* - begynnelse). Primordiene er i begynnelsen relativt udifferensierte, men på et seinere stadium får de organidentitet.

Studier av blomstringsmutanter har gitt ny innsikt i hva som skal til for å indusere blomstring. Blomstringsmutanter oppstår etter behandling med kjemiske mutagener eller radioaktiv stråling. Mutantene vises sjelden i M1-generasjonen (M-mutant). Derfor selvpollineres plantene og i neste M2-generasjon høstes interessante mutanter. Ca. 25% av avkommet etter selvpollinering vil være homozygote for en mutasjon. Ved gjentatte selvpollinering skaffer man seg stabile homozygote blomstringsmutanter.

Doble og fylte blomster er laget og selektert av planteforedlere og gartnere. Nellik og roser med mange farget kronblad er mer attraktive og populære enn dem med få. Det er homeotiske mutasjoner som forandrer pollenblad (pollenbærere) på villroser til kronblad i foredlede roser. Slike homeotiske mutasjoner hvor pollenblad er omdannet til kronblad kan man finne hos mange planter bl.a. hvitveis og blåveis.

Utrykket av blomstermorfologien (organidentiteten) er styrt av **homeotiske gener**. Loci på homeotiske gener bestemmer hvilken type blomsterblader som skal lages hvor. **Meristemidentitetsgener** koder for transkripsjonsfaktorer som er nødvendig for å lage blomsten. Studiet av homeotiske mutasjoner ledet til identifisering av **blomsterorgan identitetsgener** som er transkripsjonsfaktorer. I tillegg er det kadastralgener som er romlige regulatorer av blomstringsgener, samt meristemidentitetsgener som gjør at primordier omdanner til blomstringsmeristem. I ABC-modellen er det 3 loci A, B og C bestemmer strukturen av blomsten. A alene gir begerblad, A+B gir kronblad, B+C gir pollenblad og C gir fruktblad. Alle koder for transkripsjonsfaktorer.

Hos *Arabidopsis* har man funnet genene:

A: *APETALA1* og 2 (*AP1* og 2) . Mutanten *ap1* mangler kronblad og begerblad, og har fruktblad i stedet for begerblad, samt pollenblad i stedet for kronblad.

B: *APETALA3 (AP3)* og *PISTILLATA (PI)*. Mutanten *ap3/pi* har begerblad i stedet for kronblad, og begerblad i to rader, samt fruktblad i stedet for pollenblad i tredje rad.

C: *AGAMOUS (AG)*. Fenotypen hos mutanten *agamous* mangler pollenblad og fruktblad.

Der er også funnet D-gener (*SEP1-3 (SEPALLATA)*) hvor D+B+A kan gi blad som omdannes til kronblad.

Kvadruppelmutanten *ap1, ap2 ap3/pi* og *ag* har et blomstringsmeristem med pseudoblomster, det vil si at alle blomsterbladene er erstattet med grønne bladstrukturer.

AP2, AG, PI og AP3 er MADS-boksprotein med MADS-domene.

**MADS-boksgener** har homeotiske loci som inneholder et DNA-bindende område med konserverte nukleotidsekvenser kalt **MADS-boks domene**. MADS-boks domene gjør at spesielle transkripsjonsfaktorer bindes til DNA. *AP3, P11* og *AG* er MADS-boksgener. MADS domene tilsvarende det man finner i *Hox*-gener i dyr (vertebrater) som styrer dannelsen av lemmer og kroppsform. Navnet MADS har det fått fordi dette domene er blitt funnet i **transkripsjonsfaktorer** i gjær (*mcm1*), vårskrinneblom (*ap3*), løvemunn (*defA*) og hos menneske (*srf*). Homeotiske mutasjoner og homeotiske gener kan endre organformen slik at et organ dannes, men på feil sted eller til feil tid. **Homeoboks gener** koder for en klasse transkripsjonsfaktorer, kalt homeodomene proteiner, som regulerer gener som bestemmer skjebnen til celler og organers identitet.

Det vegetative meristem går ikke direkte over til blomster i vill-type *Arabidopsis*, men det transformeres først til et **blomsterstandmeristem** som lager en felles akse med brakter (tynne små blad). I hjørnet (aksilen) av braktene lages det laterale blomsterstandmeristemer.

I *Arabidopsis* er MADS-boksgenet *SOC1 (SUPPRESSOR OF CONSTANS1)*, *AP1* og *LEAFY (LFY)* nødvendig for at vegetativt meristem skal få blomstringsmeristem identitet. Mutasjon i *LEAFY* genet i *Arabidopsis* = *FLORICAULA (FLO)* i *Antirrhinum* blokkerer for dannelsen av blomster og lager blomsterstand uten blomster. *SOC1* er et MADS-boksgen, et meristem identitetsgen, som mottar signal fra flere signalveier og er en hovedbryter i blomsterutviklingen. Signalveien er *SOC1* → *LFY* → *AP1* hvor *AP1* aktiverer *LFY*.

Gibberellin og etylen kan indusere blomstring. Gibberellin aktiverer ekspresjon av *LFY* via transkripsjonsfaktoren *GAMYB* som er et negativt regulert DELLA-protein. Nivået av *GAMYB* er regulert av mikroRNA som aktiverer nedbrytning av *GAMYB*-transkript.

Tilsvarende blomstermutanter finner man hos *Antirrhinum*. Blomsten hos løvemunn (*Antirrhinum*) har bilateral symmetri (zygomorfi).

*Cycloidea (cyc)* og *radialis (rad)* er løvemunnmutanter som lager radiærsymmetriske blomster. Radiærsymmetriske blomster er evolusjonsmessig mer primitive og opprinnelige enn bilaterale og zygomorfe blomster. Dette gir mulighet til å studere hvordan evolusjonen har endret blomstersymmetrien.

*Arabidopsis toc* (time of CAB expression) er fotoperiodemutanter

*Arabidopsis elf3* (early flowering) er en blomstertidsmutant som blomstrer tidligere enn villtypen.

Man har funnet homologe gener til *LEAFY* og MADS-boks gener i bregner og bartrær, og her har disse genene med dannelsen av reproduktive strukturer generelt og ikke blomster. Dette betyr sannsynligvis at disse genene var tilstede hos de første landplantene for 500 millioner år siden.

Det er en sammenheng mellom fotoperiodisk blomstringsinduksjon og circadiske rytmer. Genet *CONSTANS* (*CO*) i *Arabidopsis* koder for en Zn-finger transkripsjonsfaktor som oppreguleres ved lange dager og fremmer blomstring i LDP. Det er vist av mRNA fra *CONSTANS* følger circadiske rytmer (Nature 410 (2001) 116-1120.) og dette kan være koblingen mellom blomstring og den biologiske klokka. Ekspresjon av *CO* er kontrollert av circadisk klokke med størst aktivitet 12 timer etter skumring. Lang dag gir blomstringsinduksjon hvis ekspresjon av *CO* øker samtidig. Lys øker stabiliteten via posttranslasjonsregulering av proteinet *CO* som akkumulerer ved lang dag. Kort dag er ikke induktiv fordi *CO* øker ikke i fravær av lys. Økning i *CO* mRNA ved korte dager gir ikke økt mengde *CO* protein. *Arabidopsis* mutanten *co* responderer ikke på fotoperiode. Et fytokrom *PHYB* signal om morgenen øker degradering av *CO*, men om kvelden når *CO* akkumulerer vil kryptokrom *CRY* og *PHYB* motvirke degradering. Transkripsjonsfaktoren *CO* stimulerer uttrykk av *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) og *SOC1*. Transgene planter med overekspresjon av *FT* gir rask blomstring uavhengig av fotoperiode. Uttrykk av *FT* øker under induktiv fotoperiode ved lang dag.

*FT* virker nedstrøms for *CO*, og *FT* er et reguleringsprotein kalt RAF kinase inhibitor. Blomstringsstimulus er et makromolekyl, enten protein eller RNA. Selv om man tidligere tenkte seg at at florigen er mRNA for *FT*, og mRNA kan fraktes i floemet. Små dobbeltrådede RNA (korte interfererende RNA, siRNA) og mikroRNA (miRNA) kan fraktes i floem og bidrar til resistens mot virus. Imidlertid ser det ut til at det er selve proteinet *FT* som fraktes i floemet (silvevet) og fungerer som florigen.

I ris (*Oryza*) som er en kortdagsplante, er *Hd1* (*Heading-date 1*) homolog med *CO* og *Hd3a* = *FT*. I ris øker ekspresjon av *Hd3a* ved kort dag. *Hd1* virker som en inhibitor for uttrykk av *Hd3a*. Lys undertrykker blomstring ved å hemme uttrykket av *Hd3a*. Det er flere signalveier og multiple faktorer som fører fram til blomstring:

- 1) Fotoperiodevei via fytokrom og kryptokrom. *CO* aktiverer *SOC1*, *AP1* og *LFY* som skrur på homeotiske gener for blomstring.
- 2) Autonom vei via bladantall. Reduserer uttrykk av blomstringsreseptorgenet *FLC* som hemmer ekspresjon av *SOC1*.
- 3) Vernaliseringsvei via represjon av *FLC*.
- 4) Karbohydrat-sukrosevei som gir energi som øker ekspresjon av *LFY*.
- 5) Gibberellin-vei via *GAMYB* som øker ekspresjon av *LFY*.
- 6) Mineralnæringsmangel

Alle veiene konvergerer ved å øke uttrykk av *SOC1*.



For å forstå hvordan en plante virker lager man en suppe av organismen og så studerer man hvordan molekyler renses fra denne suppen oppfører seg. Det vil alltid være et spørsmål om hvordan de resultatene man får fra delene kan relateres til det intakte system.

Mennesker har kultivert interessante og attraktive blomster. Primitive roser har fem kronblad, og fem begerblad og mange pollenblad. I de fylte rosene er pollenbladene erstattet av kronblad, noe som skyldes homeotiske mutasjoner som har skjedd spontant. De som blomstrer en gang i året hører med til den gamle rosegruppen, så de som blomstrer høst og vår og de remonterende, evigblomstrende hybridene. *Chrysanthemum* seleksjon av former med økt antall sterile randblomster. Alle nellik utviklet fra *Dianthus caryophyllus*. Man kan finne tilsvarende fylte utgaver av hvitveis, blåveis og issoleie.

## Blomstring og reproduksjon

Blomsten er et skudd med korte internodier med blomsterblad plassert på en blomsterakse kalt **blomsterbunn** (receptaculum). Blomsterstilken kalles pedicel. Blomstene finnes vanligvis i hjørnet av brakter eller brakteoler. Blomsterbladene består vanligvis ytterst av **begerblad** og innenfor dette **kronblad**, sistnevnte ofte med papiller. Begerblad og kronblad er sterile og danner et beskyttende **periant** (blomsterdekke). Begerblad og kronblad kan være utformet forskjellig, men de kan også være like og kalles da **perigonblad**. Begerbladene er ofte grønne pga. klorofyll i kloroplaste, og kronbladene kan være farget av karotenoider i kromoplaste eller flavonoider løst i vakuolen.

Innenfor kronbladene finnes **pollenblad** som utgjør den hannlige pollenproduserende delen av blomsten kalt **andrøsium**. Pollenbladet består av en tynn **pollentråd** (filament), og en **pollenknapp** dannet av to halvdeler (theka) bundet sammen i et **konnektiv** inneholdende to **pollensekker** (mikrosporangier), i alt fire pollensekker i en pollenknapp. Innerst mot pollenkornene er det et **tapetlag** som brytes ned når pollenkornene utvikles. Utenfor tapetlaget er det et mellomlag og et fiberlag. Pollen kommer ut gjennom spalter, porer eller klaffer i pollenknappen. En pollenknapp som åpner seg mot sentrum av blomsten kalles **intrors**, og åpner den seg mot ytterkanten av blomsten kalles den **ekstrors**.

I sentrum av blomsten innenfor pollenbladene finnes de hunnlige **fruktbladene** som utgjør et **gynøsium**. Frøanlegget er anatropt, kampylotropt, eller amfitropt. Fruktbladet består øverst av en tynnere **griffel** som ender i et **arr**. Arret skal fange og lette spiring av pollen. Arret kan papiller, og er vått eller tørt. Et eller flere fruktblad er vokst sammen og danner ved basis (**fruktknute**) et hulrom med **frøemner**, like mange hulrom som antall fruktblad. Frøemnene er festet til en **placenta** (frøstol) med en **frøstreng** (funiculus). Et fruktblad kan være sammenvokst med seg selv (**apokarpt**) og frøemnene kan sitte veggstilt (parietalt) ut mot hulrommet. Flere fruktblad kan vokse sammen (**synkarpt**), og frøemnene kan være plassert sentralt vinkelstående eller stående i midten (fritt sentralstående). Som alle blad har blomsterbladene ledningsstrenger.

En blomst som har både periant, kronblad og pollenblad kalles en fullstendig blomst. Blomster som har enten gynesium eller androsium kalles enkjønnet. **Monoike** arter har enkjønnete hann- og hunnblomster på samme individ. **Dioike** arter har hannblomster og hunnblomster på atskilte individer. Det finnes også blomster (polygame) som har både enkjønnete og tokjønnete blomster på samme plante. Det er stor variasjon i utforming av blomsten hos de forskjellige plantefamiliene. Kronbladene kan være fargerike for å tiltrekke pollinerende insekter, fugler eller dyr. Deler av blomsten kan være modifisert for å produsere nektar i **nektarier**. Noen blomster kan ha ekstra blomsterdeler i form av høyblad eller utvekster i form av skjell eller tenner i en **bikrone** (corona). Bikrone finnes hos Passiflora, hjulkrone og praktstjerne. I Asclepiadaceae har pollenbladene kronbladaktige vedheng.

I nucellus ligger det en celle kalt **megasporocyt** som med to reduksjonsdelinger (meiose I og II i en **megasporogenese**) gir opphav til 4 celler hvorav 3 desintegrerer. Den gjenværende **megasporen** gjennomgår 3 mitoser (mitose I, II og III, kalt **megagametogenese**), og det blir dannet en **embryosekk** (megagametofytt) med 8 kjerner. Vanligvis cellulariseres 6 av kjernene og danner henholdsvis 1 **eggcelle** og 2 **synergideceller** som utgjør **eggapparatet** i den ene enden mot **mikropyle** hvor pollenslangen vokser inn, og 3 **antipodeceller** i den andre enden. I midten av cellen, som kalles **sentralcelle**, ligger 2 **polkjerner**. Hos de forskjellige plantefamiliene er det variasjoner over dette tema, f.eks. kan polkjernene vokse sammen og antipodecellene desintegrere. Frøemnet er omgitt av 1 eller 2 **integumenter** som utvikles til frøskall etter befruktningen.

Embryosekken er den **hunnlige gametofytt** og pollenkorn med spirende pollenslange er den **hannlige gametofytt**. Ved befruktningen hvor pollenslangen vokser gjennom det stigmatiske vevet smelter en sædkjerne sammen med egget og danner en zygote og en sædkjerne smelter sammen med polkjernene og danner **triploid endosperm** (frøhvite). Hos mer primitive plantefamilier kan det også lages diploid endosperm.

Noen frø mangler endosperm og kan ha **perisperm**, dannet fra nucellus. Etter befruktningen omdannes frøemnene til **frø** og deler av blomsten til en **frukt**. Frøet består av et **embryo**, endosperm og omgitt av et frøskall (testa). Ved første celledeling av zygoten lages det en basalcelle og en celle. Basalcellen utvikles til en **suspensor**. Begerbladene kan være varige, men pollenblad og fruktblad dør vanligvis.

Frøene er omgitt av en **fruktvegg** (perikarp), som kan være hard og tørr (belg, kapsel, karyopse (skallfrukt)), eller saftig og kjøttfull (steinfrukt, bær, citrusfrukt og falske frukter). Fruktveggen kan være inndelt i lag: ytterst en eksokarp, innerst en endokarp og mellom disse en mesokarp. I en **steinfrukt** (drupe) f.eks. plomme er eksokarpen tynn, mesokarpen kjøttfull og innerst en steinhard endokarp bestående av sklerenkym som omgir frøet. Eple, pære og jordbær er eksempler på **falsk frukt** hvor blomsterbunnen vokser og omgir fruktknuten. Hos eple danner endokarpen kjernehuset. I et **bær** er alt vevet saftig og kjøttfullt. I citrusfrukten er det ytterst en perikarp ytterst med en gul eksokarp og en hvitfarget mesokarp. Hver båt er dannet fra et fruktblad. Fruktkjøttet er saftfylte hår. Hos arter i grasfamilien er frukten en skallfrukt hvor fruktveggen er vokst sammet med frøskallet. Det ytre integumentet desintegrerer og det innerste integumentet blir sterkt sammenpresset. Det ytre laget

av endospermen består av levende celler kalt aleuronlag. Skutellum er omdannet til et oppsugingsorgan. Det første frøblad er omgitt av en koleoptile og kimrota omgitt av en koleorhiza. I erteblomstfamilien er frukten en belg bestående av ett fruktblad. Cellene i eksokarp, mesokarp og endokarp vokser i forskjellige retninger og gjør at fruktveggen snor seg når den tørker. Belgen sprekker opp ved buksømmen. Hos erteser og bønner er opplagsnæringen samlet i frøblad. Fiken og ananas er en fruktstandsfrukt. Noen frukttyper kan utvikles uten befruktning kalt **partenokarpi**. Arillus er en saftig frøkappe som kan omgi frø (muskatnøtt, barlind). Samara er nøttfrukt med vinge (ask, alm og spisslønn).

## Frøutvikling

Frøet er en uttørket spredningsenhet (diaspor) som inneholder opplagsnæring og et planteembryo, en plante i miniatyr. Fra pollen som spirer på arret vokser det gjennom griffelen fram til mikropylen en **pollanslange** som bringer med seg **to spermceller**. Den ene spermcellen fusjonerer med egget i embryosekken og danner en **zygote**; og den andre fusjonerer med to sentralcellekjerner og danner **triploid endosperm**. Endosperm (frøhvite) er opplagsnæringen i frøet. Spermcellene kan ha forskjellig form, størrelse og varierende innhold av organeller. Det er indikasjoner på at spermcellen med flest plastider eller flest B-kromosomer fusjonerer med eggcellen. Zygoten deler seg og danner en **apikalcelle** og en **basalcelle**. Apikalcellen blir til embryo og basalcellen danner **suspensor**. Suspensor (embryobærer) er et tynt filament med celler som fester embryo til embryosekken.

**Protodermen** blir til epidermis på embryo. **Grunnmeristemet** danner lagringsparenkym og **prokambiet** gir ledningsvev. **Hypofysis** er den apikale cellen i suspensor og hypofysis blir til det apikale meristemet i rot og skudd. Frøskallet dannes fra **integumentene**. Frøet kan også bli omgitt av en fruktvegg (perikarp). Hos vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*) går embryo gjennom globulært stadium, hjertestadium, og via torpedostadium fram til modent embryo. Det er stor variasjon i oppbyggingen av frøet. Endospermen kan være dominerende eller lite utviklet. Frøbladene kan fungere som oppsugingsorgan og fylles med opplagsnæring som hos erteser og bønner. Hos arter i grasfamilien (Poaceae) virker skutellum (2. frøblad) som oppsugingsorgan under frøspiringen, og ved spiring av løk virker også frøbladet som oppsugingsorgan under spiring. Noen frø har **perisperm** dannet fra nucellusvev.

Den vanligste måten av endospermutvikling f.eks. hos kornslagene skjer ved at det først skjer en rekke frie kjernedeling og det dannes et syncytium. Deretter skjer det cellularisering ved at det dannes cellevegger, og etter hvert skjer differensiering og fylling med opplagsnæring. Det er ikke direkte kontakt mellom ledningsvevet i morplanten og vevet i embryo og endosperm. Sukrose transporteres via floemet fram til frøveggen i området rundt placenta/chalaza, og blir der spaltet av invertase til glukose og fruktose. Via apoplast fraktes sukker til frøemnet. Opplagsnæringen kan bestå av karbohydrater, protein, fett og fytat. Karbohydrater kan lagres i form av stivelse i stivelseskorn. Noen arter lagrer galaktomannaner i stedet for stivelse. Protein lages fra aminosyrer som fraktes til frøet. Frølagringsproteinene har tradisjonelt vært inndelt basert på løselighet, en inndeling som kan være

problematisk:

**Albuminer** - Løselig i vann. 2S albumin er vanlig hos en- og tofrøbladete planter.

**Globuliner** - Løselig i tynn saltløsning. Vanlig i erteblomstfamilien f.eks. 7S viciliner og 11S leguminer.

**Prolaminer** - Løselig i alkohol/vann og finnes vesentlig i grasfamilien.

**Gluteliner** - Løselig i svak syre eller alkali og betraktes som en undergruppe av prolaminer.

En annen inndeling er inndeling i :

Svovelrike lagringsproteiner med disulfidbindinger.

Svovelfattige lagringsproteiner

Høy molekylvekt prolaminer.

Lagringsproteinene lages på grynet endoplasmatiske retikulum og har signalpeptid slik at de fraktes inn i lumen. Proteiner kan også lagres i vakuoler. sammen med fytat (myo-inositol heksafosfat som binder makro- og mikronæringsstoffer).

Lagringsproteinene lages fra gener som har oppstått ved genduplisering, inversjoner og delesjoner. Viciliner og albuminer er glykoproteiner hvor oligosakkaridene kan være mannose/acetylglukosamin eller xylose/fucose. Flere gener under frøutviklingen (frøfylling, modning, uttørking) er kontrollert av abscisinsyre (ABA) bl.a. *lea* gener ("late embryogenesis abundant").

Proteininnholdet i hvete kan variere fra 9-15% av tørrvekten. Prolamin i hveteendospermen inneholder mye glutamin og prolin og lite lysin. Når mel blandes med vann for å gi deig blir den både elastisk og utstrekkelig. En elastisk deig egner seg til brød og en utstrekkelig til kjeks.

## Gluten intoleranse

Coeliaki er en autoimmunsykdom hvor gluten fra hvete eller rug ødelegger tynntarmen slik at tarmen ikke kan ta opp næringsstoffer. Gluten er vannuløselige frølagringsproteiner (gliadin/glutenin) som gir melet bakeegenskaper. Gluteninene er høymolekylvekts lagringsproteiner med mange vindinger slik at de danner kjeder med elastisk nettverk som kan fange opp karbondioksid produsert fra bakegjær. Gliadiner har molekylvekt lavere enn 35.000 og har ikke disulfidbindinger.

## Pollenallergi

Pollenallergi forsurer tilværelsen for mange. Imidlertid er proteinene fra pollen som virker som allergener helt nødvendige for at pollen skal være fertilt og gi frø. De allergiframkallende proteinene deltar i hydrering av pollen og vekst av pollenslangen gjennom griffelen. Protein fra pollen som virker som antigener binder seg til antistoffmolekyler (immunoglobuliner) i immunsystemet hos oss. Immunoglobuliner består av 4 polypeptidkjeder. To like lange tunge kjeder og to lette kjeder holdt sammen med disulfidbroer som danner et Y-formet molekyl. Den tunge E-kjeden til antistoffer (immunoglobulin E, IgE) setter seg på receptorer på membranen til mastceller og når mastcellene registrerer antigener som passer sammene med

antistoffene starter inflammasjonen ved å skille ut histaminer som får blodårene til å dilatere og så er allergireaksjonen igang. Mesteparten av det allergifremkallende protein i bjerkepollen er et **profilin** som binder seg til aktin mikrofilementer i cellene. Profiliner (pro filamentaktin) er små proteiner som finnes i pollenslangen. Aktin deltar i veksten av pollenslangen. Profiliner binder seg også til poly-prolin og fosfoinositidider. Noen pollenallergener har sekvenslikhet med enzymet pektat lyase som deltar i nedbrytning av pektin i midtlemellene og celleveggene. Flere allergener hos gras har sekvenslikhet med expansiner som deltar i veksten av cellevegger hos planter.

## Blomstersymmetri

Blomsterbladene kan være plassert slik at to eller flere plan gjennom blomsten deler den i symmetriske halvdeler kalt radiærsymmetri (aktinomorfe/regulære blomster). Noen kan bare deles i symmetriske halvdeler i ett plan. Slike blomster kalles bilaterale (zygomorfe/irregulære blomster). Noen få blomster har ikke noe symmetriplan og kalles asymmetriske. Like blomsterdeler kan vokse sammen (konnasjon). Hvis flere fruktblad har vokst sammen kan det dannes en pistill. Sammenvoksing av forskjellige blomsterdeler f.eks. pollenblad sammen med kronblad kalles adnasjon. Ikke sammenvokste blomsterdeler kalles fri eller atskilte. De fleste blomster har et spesielt antall med blomsterblad.

**Epigyn** (undersittende fruktknute), **hypogyn** (oversittende fruktknute) hvor beger-, kron- og pollenblad sitter under fruktknuten. Noen blomster har en blomsterkopp (hypanthium/blomsterrør) omkring fruktknuten og kalles **perigyn**. Noen ganger kan andrøsium eller gynøsium sitte på en stilk henholdsvis androgynofor eller gynofor.

Frøemnene kan være plassert på forskjellige måte i fruktknuten (placentasjon). Det kan være en vegg (septum) fl.t. septa som atskiller hulrommene i fruktknuten og placentasjon kan da være aksil. I ett hulrom kan placetasjonen være veggstilt (parietalt) eller fritt sentralstående

Vindpollinering med store mengder pollen fraktes med vinden. Små blomster uten kronblad. Vanlig i Cyperaceae, Poaceae, Betulaceae og Juglandaceae, + bartrær. Vindpollinering lite vanlig i tropene. Notophagus på den sørlige halvkule.

## Stueplanter

Lengden av mørkeperioden og blomstring har stor kommersiell og praktisk betydning for å få planter til å blomstre på en spesiell tid av året. Ved hjelp av kunstig belysning kan man gi plantene lange dager selv om det er høst eller vinter, og ved tildekning kan det skapes kunstig natt som får kortdagsplanter til å blomstre midt på sommeren hos oss. Stokkløping, det vil si blomstring med påfølgende frøsetting hos salat, og spinat (*Spinacia oleracea*) utover sommeren, gir en rask slutt på grønnsaksesongen for disse plantenes vedkommende. Det er i dette tilfellet de lange dagene utover sommeren som induserer blomstringen, men kan også skyldes vernalisering hvis

frøplantene har vært igjennom en kuldeperiode. Hos spinat som er en langdagsplante er innholdet av gibberellin lavt ved kort dag og bladene står i en rosett. Ved lang dag blir det en økning i dannelsen av GA<sub>1</sub> som gir strekning av planten via GA<sub>53</sub>→GA<sub>44</sub>, GA<sub>19</sub>→GA<sub>20</sub>→GA<sub>1</sub>.

## Fotomorfogense - lys bestemmer form

Morfogense er utvikling av arkitektonisk grunnstruktur og form i planten.

**Organogenese** er dannelse av de funksjonelle strukturene skudd, stengel, rot og blomst. Differensiering av celler til vev skjer ved **histogense**. Lys har en vital funksjon i vekst og utvikling av planter (fotomorfogense). Lyset bestemmer plantenes utseende. Under vegetasjon blir buskene lengre og har mindre greining. De plantene som vokser ytterst i en åker er mer busket. Mer busking hvis åkeren ikke er så tett. Lysindusert syntese av anthocyaniner med rødt og blått lys, grønt er ikke så effektivt. Plantene er stivere i lys enn i skygge. Ligninsyntese fremmes i lys.

Frøplanter får et helt annet utseende hvis de vokser i mørke sammenlignet med lys. Skotomorfogense er utvikling av en plante i mørke. I mørke lager ikke plantene klorofyll, unntatt nåletrær, moser og bregner. Plantene får i mørke har etiolert vekst med små foldete blad, langstrakte stengler med lite styrkevev, og røttene er lite utviklet. De bruker omtrent all energi på strekning. Hos tofrøbladete frøplanter er bladet formet i en krok slik at det ikke skal bli ødelagt på sin vei igjennom jorda. Den apikale kroken retter seg ut og bladplaten utvikles når planten kommer fram i lyset. Hos gras er det første bladet beskyttet av en slire (koleoptile) som dekker bladet.

**Mesokotyle** hos gras kan delta i strekningen hos mørkespirte planter. En ung ask (*Fraxinus excelsior*) som vokser skyggefullt har sterk apikal dominans som hindrer utvikling av sideskuddene.

Lys kan mottas av plantene via følgende fotoreseptorer: klorofyll, karotenoider (karoten og xanthofyll), protoklorofyllid, UV-B-reseptor, UV-A-reseptor og kryptokrom (et flavoprotein eller karotenoid).

Grønne planter og andre organismer som kan utføre fotosyntese inneholder grønne og gule pigmenter, hvorav de fleste deltar i omformingen av lysenergi til kjemisk energi. Grønne klorofyller og gule/røde/ oransje karotenoider er fettløselige og kan ekstraheres med aceton, etanol eller eter, som frigjør pigmentene fra sine proteinkomplekser. Flere av pigmentene er ustabile. F.eks. kan klorofyll miste Mg<sup>2+</sup> fra porfyrinkjernen og omdannes til **feofytin**. Mistes fytol-delen av molekylet omdannes klorofyll til feoforbid.

Karotenoider kan deles i to grupper: **karotener** og **xanthofyller**. Karotener er 40-karbonforbindelser og er rene hydrokarboner eks. β-karoten. Xanthofyller inneholder oksygen eks. lutein, violaxanthin og zeaxanthin.

Syntesen av klorofyll hos angiospermene trenger lys i mørke lages protochlorofyllid som er lik klorofyll a bortsett fra en dobbeltbinding mellom 2 karbon i en av de (ring D) 4 tetrapyrrollringene. Protoklorofyllid er ikke grønt og kan ikke absorbere lys til



fotosyntesen men det har en absorpsjonstopp ved 650 nm. Protoklorofyllid - apoprotein kan virke som en protoklorofyllid reduktase når den kromofore gruppen mottar lys.

Blåttlys-reseptor. Mange prosesser påvirkes av lys ca. 450 nm og et sekundært maksimum ved 370-380 nm (UV-A). Blåttlys-responser er fototropisme, hemming av internodiastrekking, stomataåpning, initiering av utvikling av kloroplasten, kloroplastorientering i cellen via aktinfilamenter i cytoskjelett.

## Fytokrom

Sollys gir ikke bare plantene energi til å drive fotosyntese og vanntransport, men kontrollerer også plantenes vekst og utvikling, fotomorfogenese. En plante som utvikles i mørke har skotomorfogenese. En etiolert bønnespire har en apikal krok som beskytter skuddmeristemet når skuddet brøyter seg vei gjennom jorden. I lys stopper strekningen, den apikale kroken retter seg ut, og det lages grønt klorofyll.

Fytokrom ble oppdaget av den amerikanske plantefysiologen L. Flint som arbeidet med effekten av lys på spiring av salatfrø, men H. Borthwick og S. Hendricks ved US Department of Agriculture, Beltsville i USA videreførte dette arbeidet i 1962, oppdaget fotoreversibiliteten i fytokrom ved frøspiring, som ga et gjennombrudd i fytokromforskningen.

Fytokrom er et vannløselig pigmentprotein med molekylvekt 250 kDa, bestående av en dimer med to subenheter, hver 125 kDa. Hver subenhet har et lysabsorberende pigment, kromofor, som er bundet til en polypeptidkjede fytokrombilien, et apoprotein. Kromofor og apoprotein danner et intakt holoprotein. Kromoforen, en åpen lineært tetrapyroll, kovalent bundet til proteinet med en thioeterbinding til cystein, en autokatalytisk kobling mellom kromofor og apoprotein. Kromoforen lages i kloroplastene fra hem i en sidevei til klorofyllsyntesen. Apoproteinet lages i cellekjernen. Fytokrom er tilstede i alle planter i svært små konsentrasjoner. Det er lite lys som skal til for å mette de prosessene hvor fytokrom deltar. Fykobiliproteiner som deltar i fotosyntesen hos blågrønnbakterier og rødalger har også en åpen tetrapyroll som kromofor gruppe, i motsetning til ringformet tetrapyroll i klorofyll og hem.

**Fytokrom** registrer informasjon om lysmiljøet omkring plantene. Fytokrom består av to interkonvertible lysabsorberende hovedformer  $F_R$  og  $F_{MR}$ , og fungerer som en autofosforylerende protein kinase som regulerer ekspresjon av gener. Den rødtlysabsorberende formen  $F_R$  har blå farge (absorberer 650-680 nm) og den mørkerødtabsorberende form  $F_{MR}$  (absorberer 710-740 nm) er blågrønn. Fytokrom kan også absorbere blått lys, mens gulgrønt lys absorberes i mindre grad. Virkningen av lys som registreres av fytokrom avhenger av likevekten mellom de to formene, som igjen avhenger av forholdet mellom rødt og mørkerødt lys. Biologisk respons følger som regel med økende konsentrasjon av  $F_{MR}$ .

De to formene av fytokrom har overlappende absorpsjonsspektere slik at det er en dynamisk likevekt mellom dem. Mengden  $F_{MR}$  etter at fytokrom er mettet med rødt lys er ca. 85 %. Bredspektret mørkerødt (fjerntødt) lys gir ca. 97%  $F_R$  og 3%  $F_{MR}$ . Ved belysning med rødt lys skjer det en *cis-trans* isomeri mellom karbonatom 15 og 16 på



den lineære tetrapyrrol. På grunn av de små mengdene med fytokrom og stort innhold av klorofyll er det vanskelig å måle fytokrom i grønt vev. Bruk av antistoffer mot fytokrom og reporter gener viser at det er mye fytokrom skuddspisser og apikal krok, men fytokrom finnes også i rothetta.

Fytokrom regulerer membranegenskapene, og rødt lys kan endre fluksen av kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) over plasmamembranen, et trinn i en molekylær signaloverføringsvei. Det er to hovedtyper fytokromresponser, raske biokjemiske og sakte morfologiske.

Fytokromresponsene består av rask signaloverføring som resulterer i bevegelse, morfologiske endringer og vekst. Tiden mellom stimuleksponering og respons kan være fra minutter til flere uker (blomstring). Raske responser er forflytning av organeller, eller skrumpning eller svelling av pulvinusceller ifm. med bladbevegelser. Allerede etter ca. 8 minutter kan man observere at rødt lys gir hemmet strekningsvekst.

Lys absorbert av fytokrom påvirker fotomorfogenese. Forholdet mellom rødt og mørkerødt i vanlig lys gjør at fytokromlikevekten forflyttes over mot mørkerødtformen  $F_{MR}$ . Karakteristisk for fytokromresponser er at de kan reverseres flere ganger ved å gi alternerende små mengder med rødt - mørkerødt - rødt - mørkerødt osv.. Det er det lyset som gis til slutt og som flytter fytokromlikevekten den ene eller andre veien som er avgjørende. Imidlertid virker denne reverseringen bare for en kortere periode etter stimuli og deretter forsvinner fotoreversibiliteten. Dette kan forklares med en flertrinns signalsekvens. Fytokrom kan påvirke og regulere membranpotensialet i raske fysiologiske prosesser.

Det mørkerødtabsorberende fytokromformen ( $F_{MR}$ ) deltar i følgende prosesser:

- 1) Spiring hos lyskrevende frø.
- 2) Redusert strekning av internodier. Redusert strekning er også en blåttlysrespons.
- 3) Utfolding av apikal krok (hypokotylekrok) hos tofrøbladete planter når skuddet kommer opp av jorda og opp i lyset. Fytokrom hemmer etylensyntesen i lys, som igjen gir åpning av den apikale kroken. Kroken gjør at bladene trekkes baklengs gjennom jorda.
- 4) Redusert strekning av koleoptile og gjennombrudd av første blad hos enfrøbladete planter.
- 5) Dannelse av bladprimordier og utvikling av første blad. For å få utviklet bladplaten fullstendig trengs imidlertid høyere lysintensiteter hvor blått lys er mest effektivt.
- 6) Utrulling av blad under deetiolerung. Spesielt gras har evnen til å rulle sammen bladene. I mørke blir planter (unntatt gymnospermer, moser og karsporeplanter) bleke uten klorofyll (etioleret). Aspargesskudd dekket av jord blir hvite, og stangselleri blir hvite, lange og sukkulente hvis de blir dekket til.
- 7) Start av kloroplastutvikling.
- 8) Vridning av kloroplasten hos grønnalgen *Mougeotia*.
- 9) Anthocyaninsyntese.
- 10) Turgorforandring i pulvinusceller og endring av bladvinkler. Skyldes ionefluks.
- 11) Knopphvile.
- 12) Start av redproduktiv fase.
- 13) Positiv og negativ kontroll av genekspressjon.

- 14) Regulering av cirkadiske rytmer og blomstring.
- 15) Endring i membranpotensial og fluks av ioner.

Plantene har flere forskjellige typer fytokromer. Fytokrom kodes av en multigenfamilie kalt *PHY*, fem forskjellige **PHY-gener** (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* og *PHYE*) lager fytokrom som har så forskjellig aminosyresekvens at det indikerer forskjellig opprinnelse og at de inngår i flere ulike og unike reguleringsveier. Enfrøbladete planter har bare *PHYA*, *PHYB* og *PHYC*. Apoproteinet beskrives som *PHY* og holoproteinet *phy*. *PHYA* virker via kontinuerlig mørkerødt lys. Det er vanskelig å isolere *phyA* mutanter, siden disse er høye i kontinuerlig mørkerødt lys og normale i rødt lys. *PHYA* er primær fotoreseptor i VLFR, og deltar i blomstringsinduksjon hos *Arabidopsis*. Mangel på *PHYA* gir pleiotrofe effekter med korte internodier og forsinket aldring. *PHYB* gir respons for kontinuerlig hvitt eller rødt lys i HIR, og deltar i LFR ved frøspiring. *PHYB* deltar også i effekter av vegetasjonsskygge som gir økt strekkning. *PHYD* og *PHYE* er strukturelt lik *PHYB*, men de har forskjellig funksjon, og deltar i vekst av bladstilk, internodiestrekning og bestemmelse av blomstringstidspunktet. *PHY*-gener får økt diversitet under evolusjonen. Enfrøbladete planter har bare *PHYA*, *PHYB* og *PHYC*. Tofrøbladete har *PHYA*, *PHYB/PHYD*, *PHYC/PHYE* og *PHYE*. Transkripsjonen *PHY*-gener hemmes i lys. Fytokromprotein A er ustabil og brytes raskt ned etter binding til ubiquitin. Ubiquitin er et polypeptid som bindes til protein og gjør det gjenkjennelig for proteosomer og nedbrytning. De fleste enzymproteiner i planter blir kontinuerlig brutt ned og bygget opp igjen avhengig av behov, og ubiquitinerer gir et signal til nedbrytning.

Fysiologisk sett har plantene to typer fytokrom: lyslabil **type I fytokrom** = *PHYA*, og lysstabil **type II fytokrom** = *PHYB*. I etiolert vev er det mest type I fytokrom, ca. ni ganger mer type I enn II i etiolerte frøplanter av ert. I grønt plantevev i lys er det omtrent lik mengde type I og II. I lys degraderes fytokrom slik at mengden blir tilpasset de høye lysfluksene. Enfrøbladete planter mister type I i lys ved hemming av transkripsjon, mRNA degradering og proteolyse. Mørkerødtformen ( $F_{MR}$ ) type II er stabil i motsetning til type I  $F_{MR}$ . *PHY*-gener koder for fytokrom type I og II.

## Fytokrom påvirkes av små mengder lys

Når man snakker om lysintensitet er det intensiteten av lys utsendt fra en lyskilde (sola eller kunstig belysning). **Irradianse** er lyset som treffer et objekt. **Fluensen** er antall lyspartikler som treffer en overflate og måles i enheten  $\mu\text{mol m}^{-2}$ . Et mol er Avogadros tall med partikler dvs.  $6.022 \cdot 10^{23}$ . Fluensraten eller lysfluksen er antall lyspartikler som treffer per areal- og tidsenhet og måles i  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Det er mulig å dele fytokromresponser inn i 3 hovedtyper etter fluens:

1) **Meget lav fluensrespons** (VLFR) er en effekt på fytokrom som skjer ved svært små lysmengder fra  $0.0001 \mu\text{mol m}^{-2}$  til metning ved  $0.050 \mu\text{mol m}^{-2}$ . Denne

fytokromeffekten er ikke fotoreversibel. Det er fytokrom B som deltar og påvirkes av rødt og blått lys. Eksempel på VLFR er rødtlysindusert hemming av strekning av mesokotylen i mørkespirt havre. Lys fra 0.001 til 0.1  $\mu\text{mol m}^{-2}$  påvirker spiring av Arabidopsisfrø. Ved VLFR omdannes ca. 0.02% av totalt fytokrom til den mørkerødtabsorberende formen  $F_{MR}$ .

2) **Lav fluensrespons** (LFR) er en fytokromeffekt som skjer ved lysmengder mellom 1  $\mu\text{mol m}^{-2}$  - 1000  $\mu\text{mol m}^{-2}$ . Det er denne som er rødt-mørkerødt reversibel og det er sannsynligvis fytokrom B som deltar. Eksempler på LFR er bladbevegelser og spiring av salatfrø. LFR følger resiprositetsloven til Bunsen og Roscoe (1850): Responsen ved høy lysintensitet i kort tid er lik responsen ved lav lysintensitet i lang tid, *i.e.* total fluens er avhengig av fluens og tid.

3) **Høy irradianse respons** (HIR) er proporsjonal med irradianse og varighet inntil lysmetning, og HIR er mettet ved mer enn 100 ganger mer fluens enn LFR. HIR er ikke fotoreversibel, og følger ikke resiprositetsloven. Det er to hovedtyper HIR. Klassisk HIR i mørkespirtede planter via PHYA. HIR responsen hos etiolerte planter (aksjonsspekteret) har toppe i mørkerødt, blått og UV A lys, og mørkerødtabsorpsjonen skyldes type I fytokrom A. Aksjonstoppene i blått og UVA skyldes fotoreseptorene for kryptokrom (CRY1 og CRY2). Den andre typen i rødt eller hvitt lys hos lysspirtede planter via PHYB. Typiske HIR effekter fra kontinuerlig eksponering med høy irradianse er hemming av hypokotylestrekning hos etiolert sennep og fullstendig utvikling av bladplaten. Andre HIR effekter er biosyntese av anthocyaniner hos tofrøbladete planter; induksjon av blomstring hos bulmeurt (*Hyoscyamus*); åpning av plumulakrok (kimkrok) i salat; økt størrelse av kimblad i sennep (*Sinapis*); samt produksjon av etylen i *Sorghum*.

Som apropos til *cis-trans* konformasjonsendring i fytokrom skyldes synet i øyet hos vertebrater en *cis-trans* isomerisering i retinal. Dette gir en konformasjonsendring i rhodopsin, aktivering av G-protein, aktivering av cGMP fosfodiesterase som medfører lavere konsentrasjon av cGMP, lukking av  $\text{Na}^+$  kanaler og et elektrisk stimuli som registreres og tolkes i hjernen. G-proteiner er membranproteiner som binder GTP og GDP på en subenhet av proteinet. Hydrolyse av GTP er nødvendig for at reguleringen skal skje. **Syklisk GMP** (cGMP) er en sekundær budbringer som også kan delta i signaloverføringen fra fytokrom.

## Lys og frøspiring

Noen frø trenger lys for å spire. Spesielt gjelder dette planter som vokser på lysåpne steder f.eks. ugrasplanter som åkersennep, meldestokk, groblad, men også følblom, bjerk, or og furu. Store frø har nok opplagsnæring til å understøtte lang vekstperiode i mørke. Små lyskrevende frø må spire nær jordoverflaten, og trenger høyt R/MR-forhold for å kunne spire. Vegetasjonsskygge gir endret forhold mellom rødt og mørkerødt lys, hvor andelen mørkerødt lys øker. Skyggeplanter viser mindre respons på forhold mellom rødt og mørkerødt lys sammenlignet med solplanter. Solplanter i

skygge får økt strekning, mindre bladareal og greining, men på sikt er dette en gunstig investering for å komme opp i lyset. Eksempler er unge spisslønn og ask i en skyggefull skog. Skygge forårsaket av vegetasjon gjør at forholdet mellom rødt og mørkerødt lys minsker. Høy andel med rødt i lyset fremmer frøspiring, mens høy andel mørkerødt lys hemmer spiringen. Frø av "Jomfruen i det grønne" må ha mørke for å spire, men de fleste frø spirer uavhengig av lys. Alle kulturplantene er fjernet så langt fra sin opprinnelige naturtilpassede tilværelse at disse spirer uavhengig av lys og mørke. Undersøkelsene av lysets betydning for blomstring og frøspiring førte frem til oppdagelsen av fargestoffet fytokrom. Det er mørkerødtformen av fytokrom ( $F_{MR}$ ) som er et trinn i prosessen som får frø til å spire. I salatfrø fører rødt lys til økt mengde biologisk aktivt gibberellin. Redusering av skyggeunngåelse kan gi økt avling av landbruksvekster, og er et eksempel på økotypevariasjon.

## Strekning

Forholdet mellom rødt (R) og mørkerødt lys (MR):

$$\frac{R}{MR} = \frac{660 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}}{730 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}}$$

Det er mer mørkerødt lys ved soloppgang og solnedgang, under 5 millimeter jord og under vegetasjon. Minskning i R/MR ratio gir økt strekningsvekst i skygge hos solplanter (skyggeunngåelse), men gir ingen effekt på skyggeplanter.

Planter som står skyggefullt under andre trær får flyttet fytokromlikevekten mot rødtformen av fytokrom ( $F_R$ ). Solplanter som står i vegetasjonsskygge blir derfor lange og strantete. Solplanteadaptasjonen til skygge er økt strekning, redusert bladareal og redusert greining. Den apikale dominansen blir utpreget slik at det dannes få sideskudd. Responsen er mest utpreget hos solplanter og observeres i liten grad hos obligate skyggeplanter.

## Fytokrom og molekylærbiologi

Signalveiene for fytokrom omfatter turgorresponser, genekspressjon og hyperpolarisering med endring av membranpotensial i løpet av sekunder. Det er ingen felles DNA-sekvens for alle fytokrom. De første genene som oppreguleres er primære responsgener og er uavhengig av proteinsyntese. Sekundære responsgener trenger syntese av nye proteiner.

Man kan lage fytokrommutanter ved å behandle frø fra *Arabidopsis thaliana* med det alkylende mutagene stoffet etanmysulfonat (EMS), lar frøene spire, lar de muterte plantene selvpollinere og frø fra neste generasjon M2 sås ut og man leter etter planter som ikke reagerer på lys, hypokotylemutanter (*hy*). Kryssing av hypokotylemutanter indikerer at det er fem loci *HY1-HY5*. *HY1-2* er nødvendig for biosyntese av den kromofore gruppen, *HY3* er fotoreseptor PHYB. *HY4* er krytokrom og *HY5* er en

lysindusert transkripsjonsfaktor. Fytokrom regulerer genekspressjon i cellekjernen. Fytokrom er en lysregulert protein kinase med rødtlysregulering av protein fosforylering og fosforyleringsavhengig binding av transkripsjonsfaktorer til promoter i fytokromregulerte gener. Kromofor og protein får en konformasjonsendring etter belysning med rødt lys. N-terminal ende av fytokrom inneholder et kromofor-bindende bilin-lyase domene (BLD) hvor tetrapyrol er bundet og et PHY-domene som stabiliserer fytokrom i den mørkerødtabsorberende formen  $F_{MR}$ .

En **hengsle-region** atskiller N- og C-terminal ende av fytokrom, og har en funksjon ved omdannelse av inaktiv  $F_R$  til aktiv  $F_{MR}$ . I N-terminal ende er det to repeterte PAS-domener som deltar i dimerisering og i interaksjon med nedstrøms effektorprotein. PAS har navn etter proteinene PER, ARNT og SIM. Deretter følger et GAF-domene med bilin lyase som er nødvendig for å binde kromoforen til en konservativ lomme på proteinet. Denne lommen er lik den man finner i fytokrom i den strålingstolerante bakterien *Deinococcus*. Bakterielle fytokromer er lysavhengige histidin kinaser som virker som sensorproteiner og fosforylerer responsregulatorproteiner. I fytokrom følger deretter to PAS-relaterte domener PRD med to **kjernelokaliseringsssekvenser** (NLS), og hvis disse blir eksponert så blir  $F_{MR}$  fraktet inn i cellekjernen. Et C-terminalt histidin kinase relatert domene deltar i autofosforylering. Autofosforyleringen er ikke en direkte del av signalfordelingen, bare en forsterkning av signalet. I cytosol er fytokrom holoprotein dimerisert i inaktiv stadium  $F_R$ . Ved bestråling med rødt lys (660 nm) skjer det en cis-trans dimerisering mellom karbon  $C_{15}=C_{16}$  og rotasjon i  $C_{14}-C_{15}$ , noe som gir konformasjonsendring i hengsleregionen som blottlegger kjernelokaliseringsssekvensen, og derved blir  $F_{MR}$  fraktet inn i cellekjernen. Aktivert mørkerødtform fosforylerer fytokrom kinase substrat 1 (PKS1) som interagerer med PHYA og PHYB, og mottar fosfat fra PHYA. Fytokrom assosiert protein fosfatase 5 (PAPP5) gir stabil mørkerødt form av fytokrom. Kinase derimot gir dannelse av den rødtlysabsorberende formen som deretter brytes ned av 26S proteasom. Når aktiverte fytokromformer kommer inn i kjernen påvirkes transkripsjonen direkte via fytokrom interagrende faktor 3 (PIF3), en basisk heliks-løkke-heliks transkripsjonsfaktor.

Fytokrom i bakterier er et lysavhengig sensorprotein med serin/threonin kinase som fosforylerer et tilsvarende responsregulatorprotein.

Type I lages av genet *PHYA* og kalles **fytokrom A**. Fytokrom A overfører responser fra kontinuerlig mørkerødt lys. *PHYA* er transkripsjonsaktiv i mørkespirte frøplanter, men har ingen spesiell funksjon i hvitt lys, og hemmes av lys hos enfrøbladete planter. *PHYA* mRNA er ustabil slik at når mørkespirte planter overføres til lys nedbrytes *PHYA* mRNA. Fytokrom A (*PHYA*) deltar i de-etiolering i mørkerødt lys og ved meget lav fluensrespons (VLFR) spiring i *Arabidopsis* i bredspekteret lys. *PHYA* er et fotoreseptor for VLFR. Klassiske mørkerødt-HIR i etiolerte planter er mediert av *PHYA*. Mengden av holoprotein *PHYA* reguleres ved proteinnedbrytning. *PHYA* merkes med ubiquitin som bindes kovalent og derved går ubiquitin-merket *PHYA* til proteasom og nedbrytes. Seleksjon av *phyA*-mutanter skjer i kontinuerlig mørkerødt lys hvor de er høye, og deretter overføres de til kontinuerlig rødt lys hvor de er normale.

**Fytokrom B** (PHYB) responderer på kontinuerlig rødt med høy fluensrate (R-HIR) eller hvitt lys. Fytokrom B deltar i skyggeunngåelse, strekning og frøspiring. PHYB regulerer lav fluensrespons og deltar i fotoreversibel frøspiring.

Fytokrom B mutanter *phyB* med lang hypokotyle i hvitt lys lager lite klorofyll, og det er feil i evne til å respondere på hormoner. Streckning av hypokotylen hemmes i hvitt lys og fytokrom er fotoreseptoren. Hypokotylemutanter *hy* har lang hypokotyle i lys. Mutanten *hy3* mangler PHYB. PHYB og PHYE oppfører seg som type II fytokrom.

PHYD og PHYE deltar ved strekning av bladstilk og internodier, og deltar i kontroll av blomstringstidspunkt. Hos tofrøbladete planter synker konsentrasjonen av PHYA i lys ved proteolyse, men ikke så mye PHYB, PHYC og PHYD type II fytokrom og finnes i etiolerte og lyseksponerte planter.

I signalveien for fytokrom deltar fytokrominteragerende faktorer (PIF) hvor PIF3 er en heliks-løkke-heliks transkripsjonsfaktor. Andre faktorer er fytokimkinase substrat I (PKS1), nukleosiddifosfat kinase 2 (NDPK2) og fytokromassosiert proteinfosfatase 5 (PAPP5).

Det finnes flere plantemutanter som enten har redusert mengde fytokrom eller hvor fytokromsignalveien er påvirket. For eksempelel *aurea* (*au*) mutant av tomat, lang hypokotyle fra agurk (*lh*) og lang hypokotyle mutanter (*hy*) av *Arabidopsis*. Både *au* og *lh* har redusert mengde av fytokrom type I. *hy* mutanter har uvirksomme gener for fytokrom og kryptokrom. Andre eksempler på lysfenotypemutanter er *cop* (constitutive photomorphogenesis), *det* (de-etiolated) og *fusca*. FUSCA (FUS) gir rødfarge på planter vokst i lys. *COP1* koder for E3-ubiquitin ligase. COP9 og andre COP-proteiner hører med til COP9 signalosom (CSN) som åpner "lokket" til proteosom og derved regulerer omsetning av proteiner. I mørke går COP1 inn i kjernen og undertrykker lysregulerende gener og ubiquitinerer HY5. I mørke blir HY5 degradert via COP-DET-FUS proteasomkompleks. I lys vil COP1 interagere direkte med SPA1 og blir eksportert til cytoplasma. Lys virker som en repressor, COP1 fraktes ut av kjernen og transkripsjonsfaktoren HY5 aktiveres

Bakterier har registreringsproteiner som består av et mottaksdomene og responsdomene. Noen brassinosteroider deltar i lysregulerte prosesser. Steroidhormoner kan bevege seg gjennom membraner og kan virke som transkripsjonsfaktor eller overflatereseptor.

Forsøk som viser at fytokrom kan gi endringer i den elektriske ladningen på overflaten av rotspisser av bygg (*Hordeum vulgare*) (Tanadaeffekt). Rødt lys gjør at rotspissene fester seg til negativt ladet glass.

## Kryptokrom, fototropin, UVB-reseptor og zeaxanthin

Det finnes en rekke **blåttlysrespons**er i planter, alger og sopp som påvirkes av den delen av det elektromagnetiske spektrum som vi oppfatter som blått lys. Opprinnelig hadde man vanskeligheter med å identifisere hvilket pigmentmolekyl som registrerte blått lys og det ble en periode kalt kryptokrom - det skjulte pigment. Karakteristisk for blåttlysrespons er tre topper i aksjonsspekteret (trefingerspektrum) i bølgelengdeområdet 400-500 nm (420 nm, 440 nm og 480 nm) pluss en topp ved 370 nm. Dette er spesifikke blåttlysrespons hvor rødt og mørkerødt lys ikke har noen effekt. Både fytokrom og klorofyll absorberer blått lys. Aminosyren tryptofan absorberer fra 250-400 nm. Det er flere kandidater til blåttlysreseptoren: karotenoider, flaviner og pteriner bundet til protein. Lysabsorpsjonen skyldes de konjugerte dobbeltbindingene i karotenoidene og isoalloxazinringen i flavin.

Eksempler på blåttlysrespons hos planter:

- 1) Kloroplastbevegelser i cellene og fototaksis. Kloroplastene kan forflytte seg i cellene via cytoskjelettet og orientere seg til steder med optimale lysforhold. Fototaksis vil si at encellede alger eller bakterier forflytter seg mot eller vekk fra lyskilden
- 2) Fototropisme - planter som bøyer seg mot lys hvor plantehormonet auxin deltar i prosessen. Spesielt hos mørkespirte en- og tofrøbladete planter. Bøyningen skjer bare i organismer som vokser. Fototropisme for sporangioforen, en sporebærende struktur på toppen av en lang tynn enkeltcelle, hos koblingssoppen *Phycomyces* bl.a. oljemugg (*P. blakesleeanus*). Fototropin er fotoreseptor ved fototropisme.
- 3) Hemming av hypokotylestreking. Blått lys sammen med rødt lys gir reduserer streking av stengler. Blåttlysresponsene er raske sammenlignet med rødtlysresponsene. Blått lys gir depolarisering av membranen i hypokotyleceller og aktivering av anionkanaler.
- 3) Økt syntese av klorofyll og karotenoider. Blåttlyseffekt på genet som koder for enzymet glutamat-1-semialdehyd aminotransferase i klorofyllbiosyntesen hos grønnalgen *Chlamydomonas reinhardtii*.
- 4) Åpning av spalteåpninger (stomata). Stomata åpnes ved en blåttlysaktivert  $H^+$ -ATPase i lukkecellenes plasmamembran, koblet til opptak av  $K^+$ ,  $Cl^-$  og  $malat^{2-}$ . Man må skille mellom åpningen som skyldes fotosyntese og den rene blåttlysresponsen. Eksperimentelt kan man bruke rødt lys til å mette fotosyntesen og gis deretter blått lys får man større åpning. Soppgiften fusicoccin aktiverer  $H^+$ ATPase slik at spalteåpningene blir stående permanent åpne. Blåttlysaktivert åpning av stomata via zeaxanthin som fotoreseptor er rask, reversibel og fungerer gjennom hele livssyklus, mens fototropisme og redusert hypokotylestreking er mest aktive i tidlige stadier av livssyklus. Planten *Adiantum* mangler blåttlysreseptor og åpner i rødt lys.
- 5) Fotoreaktivering og reparasjon etter UV-skader. Fotoreaktivering er en enzymatisk reparasjonsprosess hvor en fotolyase deltar. Det blåttlysabsorberende enzymet binder seg spesifikt til syklobutyl-pyrimidin dimere i DNA, forårsaket av UV-lys, og reparerer skaden. Derfor repareres UV-skadene raskere i lys enn i mørke.
- 6) Økt respirasjon.
- 7) Pigmentsyntese i brødmugg (*Neurospora*)
- 8) Greining av algen *Vaucheria*.



- 9) Blåttlysaktivering av genet som koder for glutamat-1-semialdehyd aminotransferase i *Chlamydomonas*, det første trinn i syntesen av klorofyll.
- 10) Opptak av anioner i alger
- 11) Fototaksis hos encellede organismer
- 12) Stilling av biologisk klokke
- 13) Syntese av anthocyaniner
- 14) Endring av membranpotensial
- 15) Kloroplastbevegelser
- 16) Blad parallelt med lyset ved høy lysfluks
- 17) Infeksjonsprosessen for bakterien *Brucella*.

Blått lys stimulerer assymmetrisk vekst og bøyning. Fototropisme og bøyning skjer bare i organer som vokser f.eks. etiolerte havrekoleoptiler som ble brukt til de klassiske fototropismeforsøkene.

## Blåttlysresponer og molekylærbiologi

**Kryptokrom 1** (CRY1), som er det samme som HY4-protein, er fotoreseptor for blåttlyshemming av stengelstrekning. *CRY1* (*HY4*) koder for et 75kDa protein med sekvenslikhet med mikrobiell DNA fotolyase. Fotolyase inneholder FAD og pterin-metyltetrahydrofolat. Pteriner er pteridiner som absorberer lys og finnes i pigmentceller i insekter, fugl og fisk. Når pterin absorberer blått lys overføres energien til FAD. CRY1 er ingen fotolyase. Proteinene CRY1 og **kryptokrom 2** (CRY2) er vanlige i alle celler. CRY2 degraderes raskt i lys. CRY1 og CRY2 blir fraktet til cellekjernen hvor de reagerer med COP1 som er en ubiquitin ligase. CRY1 og CRY2 interagerer også med fytokrom A (PHYA) og kan bli fosforylert av PHYA. Det er både fosforylering og proteinnedbrytning i signalveien for blåttlysresponer. Overekspresjon av *CRY1* i transgene planter gir økt følsomhet for blått lys.

**Fototropiner** (PHOT1, PHOT2) mottar blått lys i plasmamembranen, og deltar i fototropisme, stomataåpning og kloroplastbevegelse. Den C-terminale enden av fototropin er en serin/threonin kinase, og N-terminal ende har to LOV-domener (lys, oksygen, volt) som binder flavin (FMN) og har sekvenslikhet med signalprotein i bakterier og pattedyr. Ved binding av FMN skjer det en blåttlysavhengig autofosforylering. Fototropin binder 14-3-3 protein. En elektrokjemisk gradient ved protonpumping driver ionetransporten som gir økt turgor. Fototropin fra insekter binder FMN i N-terminal ende og har blåttlys autofosforylering. Genet *PHOT1*(=*NPH1*(*nonphototropic hypocotyl*)) koder for fototropin. PHOT2 virker ved høy lysfluks. Fototropin ligner O<sub>2</sub>-sensorprotein i *E.coli* og *Azotobacter*, men ligner også på spenningsregulerte K<sup>+</sup>-kanaler i vertebrater og bananflue (*Drosophila*). Mutanten *phot1* mangler hypokotyle og har ikke fototropisme.

**Zeaxanthin** er fotoreseptor ved blåttlys åpning av stomata. Reguleringsproteinet 14-3-3 bindes til fosforylert C-terminal ende i H<sup>+</sup>ATPase i lukkecellene, men 14-3-3-protein bindes ikke til ikke-fosforylert form. 14-3-3 proteiner er en gruppe sure proteiner som dimeriserer og letter protein-protein interaksjoner. 14-3-3 protein

regulerer transkripsjon ved å binde seg til aktivatorer i cellekjernen, jfr. nitrat reductase. Dissosierer ved defosforylering. Grønt lys reverserer blåttlysavhengig stomataåpning ved isomerisering av zeaxanthin. Planten *Mesembryanthemum crystallinum* er en fakultativ C3-CAM plante og i formen CAM hemmes dannelsen av zeaxanthin. OCP (organge carotenoid protein) er et løselig protein i antennene i fotosystem II i blågrønnbakterier og binder 3-hydroksyechineone, et stoff som ligner på zeaxanthin.

Uttrykk av **primære responsgener** skjer uavhengig av proteinsyntese ved MYB transkripsjonsfaktor.

Uttrykk av sekundære responsgener trenger proteinsyntese slik som lyshøstende klorofyllbindende proteiner (LHCB).

*cis*-regulerte elementer er konserverte. Det er et lysresponderende element i promoterregionen 250 basepar ovenfor transkripsjonsstart. Et lysregulert gen inneholder et GT-1 sete (GGTTAA), I-boks (GATAA) og G-boks (CACGTC) og *trans*-aktiverende faktorer binder seg til disse.

*cop* (*constitute photomorphogenesis*) og *det* (*de-etiolated*) er mutanter av *Arabidopsis* som ødelegger responsen på mørke (skotomorfogenese)

*cpd* (constitutive photomorphogenesis dwarisms) er et cytokrom P<sub>450</sub> protein.

DET2 er en steroid 5 $\alpha$ -reduktase som katalyserer en NADPH avhengig overføring av testosteron til dihydrotestosteron. Kan studere dette ved å screene mutanter av *Arabidopsis* som har lysvekstmorfologi i mørke.

## Cirkadiske rytmer

Cirkadiske rytmer er **endogene rytmer** som følger ca. 24-timerssyklus, styrt av en biologisk klokke som stilles og synkroniseres av skumrings- og demringslys som virker som en zeitgeber (tidsgiver). Planter har cirkadiske rytmer som er adaptert til og følger lys-mørkesyklus på det naturlige voksestedet (cirkadisk respons). Cirkadiske rytmer deltar i foteriodisme og blomstring, men er også viktig i vegetativ vekst. Eksempler prosesser i plantene som har cirkadiske rytmer er blad- og blomsterblad med dag- og nattstilling; åpning og lukking av stomata, fotosyntese; respirasjon; feedback-regulert metabolisme; samt vekst og sporulering i sopp (*Neurospora*, *Pilobolus*). Hvis en lys-mørke rytme er etablert og planten settes i kontinuerlig mørke så vil en frittstående rytme fortsette, men det blir et større avvik fra 24-timerssyklus.

**Periode** er tiden mellom sammenlignbare punkter på en repeterende syklus, *i.e.* tiden mellom to påhverandre følgende maksimumspunkter. **Fasen** er ethvert punkt på syklus. **Amplitude** er avstanden mellom topp og bunn på syklusen. Et **faseskifte** kan tilpasse den cirkadiske rytmen til en annen dag-natt syklus hvor hele syklusen flyttes forover eller bakover. Faserytme som faller sammen med lysperiode i tidligere rytme kalles subjektiv dag. Rytme som faller sammen med den tidligere mørkeperioden kalles subjektiv natt. Hvis man lar en plante tilpasses 12 t lys etterfulgt av 12 t mørke og etterpå lar det bli en frittstående fase i mørke vil fasen som dag gi en subjektiv dag og og natt subjektiv natt. Hvis lys blir gitt i de første timene av subjektiv natt forsinkes faserytmen, men hvis lys gis mot slutten av subjektiv natt øker faserytmen.

En lyspuls i de første timene av subjektiv natt forsinker rytmen. Lys gitt i enden av subjektiv natt fremskynder faserytmen og tolkes som start på en ny dag. Faseskifte skjer via fotoreseptorer. Alle fytokrom, unntatt PHYC, deltar i stilling av klokka. Kryptokrom CRY1 og CRY2 deltar i blåttlysstilling av klokka. CRY er også nødvendig for å stille klokka med rødt lys. CRY-genene har likhetstrekk med bakteriell flavoprotein DNA-fotolyase, flavoproteiner som reparerer pyrimidindimere etter skader forårsaket av UV-lys. I planter deltar ikke dette proteinet i DNA-reparasjon, men deltar i stedet i strekning, bladutvikling, fotoperiodisk kontroll og cirkadisk klokke. Planter som følger den naturlige lys-mørkesyklus inneholder mer klorofyll og biomasse enn planter som er ute av fase med omgivelsene. Faserytmen kan endres av rødt lys etterfulgt av mørke. Rytmene er endogent styrt av en indre rytmeboks (pacemaker) kalt **oscillator**. Oscillatoren har **temperaturkompensasjon** slik at den går med samme hastighet uavhengig av temperatur. Den indre oscillator er koblet til fysiologiske prosesser. Den cirkadiske oscillator har klokkegener med en negativ feedback-løkke på transkripsjonen. Man har funnet cirkadiske oscillatorer, en transkripsjon-translasjon negativ tilbakekoblingsklokke, hos blågrønnbakterier, brødmuggsopp, bananflue og laboratoriemus.

## Cirkadiske rytmer og molekylærbiologi

Det er laget flere Arabidopsis klokkemutanter : *toc* (*timing of CAB expression*) hvor CAB er klorofyll a/b bindende protein, *cca1* (*circadian clock-associated*) og *lhy* (*late elongated hypocotyls*) .

Klokkegener finnes hos blågrønnbakterier, sopp, planter og dyr. Klokkegener i Arabidopsis er *TOC1* og MYB-relaterte transkripsjonsfaktorer fra *LHY* (*late elongated hypocotyls*) og *CCA1* (*circadian clock-associated1*) koder for transkripsjonsregulatorer. *TOC1* er en positiv regulator og aktiverer uttrykk av *LHY* og *CCA1* ved skumring. Degradering av *TOC1* skjer via F-boks protein. F-bokser er proteinområder som fremmer protein-protein interaksjoner. Proteinene CRY1 og CRY2 er nødvendig for stilling av klokka med blått lys, slik at både kryptokrom og fytokrom deltar i de cirkadiske rytmene. Kryptokrom kodes av genet *CRY1*, og ligner på et flavoprotein DNA-fotolyase som utføre blåttlysavhengig elektronoverføring. Man har funnet kveldssekvensen AAAATATCT for gener som uttrykkes om kvelden. Proteinsyntese som påvirkes av cirkadiske rytmer er LHCII (lyshøstende klorofyll II) og CAB (klorofyll a/b-bindende protein).

## Vekstbevegelser

Det vil alltid være bevegelse i et planteorgan når det vokser. I tillegg kan planteorganer plasseres i en bestemt posisjon i rommet avhengig av ytre eksogene omgivelsesfaktorer eller indre endogene stimuli. Ytre stimuli må registreres ved en

persepsjon før de kan gi virkning. Vekstbevegelser som gir utskyting av frø og frukt skyldes utløsning av mekaniske spenninger i celler og vev.

Tropismer og nastier

**Tropismer** er retningsbestemte vekstresponser som resultat av et ytre stimulus, hvor retningen på stimulus bestemmer retningen på responsen. Tropismebevegelsen kalles positiv hvis vekstbevegelsen skjer i samme retning som det ytre stimulus kommer fra eller virker, negativ hvis motsatt vei. Eksempler på tropismer er (stimulus i parentes): fototropisme (lys fra en retning), gravitropisme (tyngdekraft), heliotropisme (jordas rotasjon som gjør at sola flytter seg på himmelen gjennom dagen), kjemotropisme (kjemisk stoffgradient) og thigmotropisme (mekanisk berøring).

**Nastier** er bevegelser i et planteorganer som ikke er relatert til retningen på det ytre stimulus. Nastier forårsaket av forandringer i turgortrykk i spesielle **pulvinusceller** er reversible. Nastier kan også være plastisk varige vekstbevegelser. Et typisk eksempel er hvordan flytting av blomsterblad henholdsvis åpner og lukker blomster avhengig av temperatur (termonasti) og/eller lys (fotonasti). Termonasti hos tulipaner. Fotonasti hos løvetann, hvitveis, engnellik, og snøsøte. Andre nastier er nyktinasti (sovebevegelser), thigmonasti (berøring) og hydronasti (vann).

## Fototropisme

Fototropisme er vekst av skuddet mot lyset (positiv fototropisme) eller mer sjeldent vekk fra lyset (negativ fototropisme). Bøyningen mot lyset skyldes forskjellig vekst på skygge- og lyssiden, og kan forklares ved Cholodny-Wents hypotese hvor plantehormonet auxin fra skuddspissen forflyttes mot skyggesiden hvor det gir økt vekst. Koleoptiler hos gras har positiv fototropisme og er blitt mye brukt i undersøkelse av fenomenet. Hva slags lysforhold planten har hatt før den utsettes ensidige belysningen kan påvirke effekten.

To lyskilder med forskjellig lysstyrke kan gi forskjellig fototropisk respons.

Bladmosaikk hos f.eks. spissslønn (*Acer platanoides*) og alm (*Ulmus glabra*) skyldes en kombinasjon av forskjellig størrelse av bladene (anisofylli) og fototropisme.

**Heliotropisme** er en type fototropisme hvor plantedeler følger sola gjennom dagen som et radioteleskop. Blomsten hos hvitveis (*Anemone nemorosa*), solsikke (*Helianthus annuus*), og reinrose (*Dryas octopetala*) eller bladene til blomkarse (*Tropaeolum majus*) er eksempler på heliotropisme. Ved høy solinnstråling midt på dagen kan blader plasseres parallelt med innstrålingen slik at minst mulig lys treffer bladet f.eks. bønner (*Phaseolus*). Fototropisme finnes også hos alger og sopp.

## Gravitropisme

Gravitropisme er en vekstrespons på tyngdekraften som gjør at skuddet vokser oppover og rota nedover. Gravitropisme gjør at nedbøyde gras som blir liggende horisontalt kan rette seg opp ved vekst på undersiden av nodiene. Tyngdekraften registreres av amyloplaster som virker som **statolitter**. Celler som inneholder statolitter kalles **statocytter**. I skuddet ligger statocytene i en skjede på utsiden av

ledningsstrengene. Parenkymkjeden henger sammen med endodermis i røttene. I røttene ligger statolittene i celler i sentralsylinder eller i kolumella i rothetta. Hele protoplasten kan i noen tilfeller virke som en statolitt. Agravitropiske mutanter har vist at plantehormonet auxin deltar i gravitropisme, og gravitropisme kan delvis forklares ved Cholodny-Wents hypotese. Kalsium spiller også en rolle. For vekst i vinkler i forhold til tyngdekraften har man ingen god hypotese. Diagravitropisme er vekst i rett vinkel på tyngdekraften f.eks. utløpere, og rhizomer like under jordoverflaten. Plagiogravitropisme er vekst i vinkler mellom  $0^\circ$  og  $90^\circ$  i forhold til tyngdekraften. Etter at blomsten på peanøtt (*Arachis hypogaea*) er pollinert vokser blomsten positivt gravitropisk som gjør at belgen utvikles under jorda. Skuddet på hestehov (*Tussilago farfara*) vokser først negativt gravitropisk. Etter avblomstring bøyer skuddspissen seg nedover positivt gravitropisk, for deretter å rette seg opp igjen når frøene er klar for spredning. Hos lavlandsbjerk (*Betula pendula*) vokser hunnraklen negativt gravitropisk og hannraklen positivt gravitropisk. Effekten av tyngdekraften på planter kan også undersøkes i en sakte roterende **klinostat** eller ved mikrogravitasjon i romferge eller romstasjon. Forsøk med mikrogravitasjon har vist redusert vekst av planter. Årsaken har vært etylen i romkapselen eller at redusert konveksjon har påvirket gassutveksling og derved tilgangen på karbondioksid.

## Thigmotropisme (haptotropisme)

Thigmotropisme er vekstbevegelser som skyldes mekanisk berøring eller vind, og gjør at røtter vokser rundt stein i jorda, eller at planter kan klatre ved at slyngtråder fester seg til objekter. Spissen på slyngtråden har roterende søkebevegelser inntil den kommer i kontakt med et objekt den kan ankerfeste seg til. Deretter tvinner tråden seg opp som en spiral. Bladstilker kan også få endret vekstretning etter berøring. Mekaniske bevegelser av et insekt som har festet seg til slimdråpene på tentaklene hos soldoggbladet hos soldogg (*Drosera*) kan få nærliggende tentakler til å bevege seg mot insektet. Samtidig stimulerer sammenrulling av bladet. Tentaklene kan også stimuleres med kjemiske stoffer. Det finnes flere lignende eksempler hos insektfangende planter. Det er flytende overgang mellom thigmotropisme og thigmonasti (seismonasti). Etter berøring vil pollenbærerne i blomsten hos berberis (*Berberis vulgaris*) bøye seg mot arret. Pollinier i blomsten hos orkideer kan bøye seg framover og feste seg til besøkende insekter. Det er flere eksempler på at både arr og pollenbærere kan bevege seg som resultat av berøring. Berøring av *Mimosa pudica* gjør at småblad, blad og bladstilker folder seg sammen når vann går ut av pulvinusceller. Et aksjonspotensial beveger seg gjennom planten med opptil 3 cm per sekund. Flyttingen av signalet kan lett observeres ved å brenne en bladspiss med en fyrstikk.

## Kjemotropisme

En konsentrasjonsgradient av et kjemisk stoff kan påvirke vekstretning av planteorganer. I starten av infeksjonsprosessen med nitrogenfikserende bakterier

(*Rhizobium*) hos erteplanter får kjemiske stoffer fra bakterien rothårene til å krølle seg. Veksten av pollenslanger fra spirende pollen kan retningsbestemmes vha. kjemiske stoffer.

## Fotonasti og termonasti

Blomster åpner seg ofte i lys (fotonasti) og lukker seg i mørke og overskyet vær som hos løvetann (*Taraxacum*) og snøsøte (*Gentiana nivalis*). For nattblomstrende planter er det omvendt. Fenomenet kalles fotonasti. Disse bevegelsene fremkalles av ulike saftspenningsbevegelser på kronbladenenes over- og underside. Ofte kan bladenes plassering skyldes et komplisert samspill mellom lys, temperatur og indre rytmer. Åpning og lukking av spalteåpninger er en fotonasti som skyldes reversibel endring i turgortrykket i lukkecellene. Spalteåpningsmekanismen kan også sies å være en form for hydronasti siden de responderer på vanninnholdet i planten, og kjemonasti ved å påvirkes av konsentrasjonen av karbondioksid i det substomatale rom i bladet.

**Termonasti** er bevegelser som skyldes endringer i lufttemperatur. Ofte er disse vanskelig å skille fra fotonasti idet naturens lys- og temperaturforhold varierer parallelt. Kronbladbevegelsene hos krokus og tulipan antas å være rene temperaturbevegelser. *Rhododendron* med eviggrønne blad har blad som henger vertikalt sammenrullet om temperaturen er kaldere enn  $-10^{\circ}\text{C}$ . Ved høyere temperatur stilles bladene horisontalt og retter seg ut, en termonasti.

## Nyktinasti

Fytokrom regulerer sovebevegelser (nyktinasti) hvor bladene står horisontalt og åpne om dagen, og vertikalt lukket om natten. Bladvinkelen endres pga. rytmiske turgorendringer i pulvinusceller ved basis av bladstilken f.eks. hos erteplanter, gjøkesyre (*Oxalis*), *Mimosa*, *Samanea* og *Albizia*. Blått lys stimulerer lukkede blad til åpne seg, og rødt lys etterfulgt av mørke gir lukking. Det skjer turgorendringer i celler på motsatt side av pulvinus (bladhengsle). Det er ventrale motorceller på abaksial side, og hvis disse er turgide gir det åpning. Hvis dorsale motorceller på adaksial side akkumulerer  $\text{K}^+$  gir det lukking. Effekten er avhengig av fluksen av  $\text{K}^+$  og  $\text{Cl}^-$  over plasmamembranen. Fytokromstyrt lukking gjør at apoplast pH i dorsale motorceller minsker, mens apoplast pH i ventrale motorceller øker.  $\text{H}^+$ ATPase i dorsale motorceller er aktive i mørke, samt det skjer regulering av åpning av kaliumkanaler.

## Klatreparasitter

Lianer, kvelerfiken, vindelplanter (*Convolvulus*) og parasitter som neslesnyltetråd (*Cuscuta europaea*) har behov for å vokse inn i en vegetasjonsskygge hvor det er størst sannsynlighet for å finne en stamme eller stengel de kan klatre i (skototropisme). Fytokromsystemet har mulighet til å registrere hvor det er vegetasjonsskygge, noe som deretter påvirker vekstretningen.

## Hydronasti



Hydronasti er sammenrulling eller folding av blad som resultat som mangel på vann. Skjer ved at vann tapes fra tynnveggede celler i epidermis.

## Epinasti

Epinasti er bøying av bladstilk slik at bladspissen blir pekende nedover. Cellene på oversiden av bladstilk utvider seg. Hos planter som er følsomme for oversvømt jord blir det økt syntese av den sykliske aminosyren 1-aminosyklopropan-1-karboksylyse (ACC) i rota. Når det blir mangel på oksygen i røttene kan ikke ACC omdannes til plantehormonet etylen. ACC blir derfor fraktet opp i skuddet hvor økt etylensyntese gir epinasti. Høye konsentrasjoner auxin gir epinasti via etylen.

## Endogene bevegelser

Plantebevegelsene nevnt foran har ytre årsaker. Plantene har imidlertid også endogene plantebevegelser som skyldes indre faktorer. Planter vokser ikke rett opp, men spissen har kontinuerlig sirkel- og spiralbevegelser eller vifter fram og tilbake som en pendel. Fenomenet kalles **cirkumnutasjoner** og skyldes forskjellig vekst i delene av skuddmeristemet. Slyngtråder har nutasjoner som gjør at de lettere kommer i kontakt med objekter de kan feste seg til. Slyngplanter som klatrer vertikalt har en genetisk bestemt rotasjonsvei på skuddet. Et annet eksempel på endogene bevegelser er nyktinasti.

## Nyktinasti - sovebevegelser

Plantene utsettes for døgnvariasjoner i lys, vind, temperatur og luftfuktighet. Sovebevegelser (nyktinasti) er plantenes plassering av bladene i spesielle posisjoner i løpet av døgnet. Nyktinasti er endogene **cirkadiske rytmer** hvor bladstillingene er rytmiske og kontrollert av en indre **biologisk klokke**. Bladstillingsrytmen følger ikke nøyaktig 24 timers syklus hvis rytmen får løpe fritt i mørke uten å bli stilt av demring- og skumringslys. Det er en indre biologisk klokke (oscillator) som måler rytmen. Klokken er uavhengig av temperaturen. Det ville vært en dårlig klokke hvis den begynte å gå raskere når temperaturen steg. Siden økt temperatur øker hastigheten på de fleste reaksjonene i planten skulle man forvente at den biologiske klokken er temperaturavhengig, noe den ikke er. Nyktinasti kan observeres hos gjøkesyre (*Oxalis acetosella*), bønner (*Phaseolus*), kløver (*Trifolium*) og stueplanten *Marantha*. Bladene står horisontalt om dagen og vertikalt om natten. Bevegelse av blad, småblad og bladstilker skyldes **pulvinus** ved basis av blad eller stilker. Vann kan bevege seg ut eller inn av pulvinusceller og endre turgortrykket i disse. På samme måte som ved åpning og lukking av lukkecellene i spalteåpningene skyldes vannbevegelsen ionetransport bl.a. av kalium. Som tidligere nevnt kan slike bladbevegelser skyldes termonasti og fotonasti. Hele metabolismen i er forøvrig rytmisk, noe som skyldes regulering av de biokjemiske reaksjonene i planten ved tilbakekobling (feedback).



## Katapulter og andre utskytningsmekanismer

Frø og frukt kan skytes ut fra planten etter katapultprinsippet. Årsaken kan være en kombinasjon av døde og levende celler, eller hygroskopiske bevegelser i celler med en spesiell innleiring av cellulosefibriller i veggen. Forskjellig turgortrykk i vevene kan skape spenninger som blir utløst. Velkjent er kapselen hos springfrø (*Impatiens*) som åpner seg ved at deler av den krøller seg sammen og frøene skytes ut. Den ytre delen av fruktveggen har tynnveggete parenkymceller hvor det er høyt turgortrykk, men innerst ligger det fibre som forsøker å motstå utvidelse. Derved bygger det seg opp spenning i kapselen som utløses ved lett berøring. Når frøene er modne løses bindingen mellom de 5 fruktbladene i kapselen ved at midtlamellene brytes ned. Kapselen hos gjøkesyre (*Oxalis acetosella*) åpner seg også eksplosivt. Andre typer utsendelse av frø og sporer baserer seg på hygroskopiske vannbevegelser inn eller ut av døde celler og vev. Hydrering kan gi svelling, utvidelse og åpning av frukt. Peristomtennene på mosekapsler, og elaterer på sporer til sneller (*Equisetum*) har hygroskopiske bevegelser. Delfruktene hos tranehals (*Erodium*) har en agne med fibre som ruller seg opp til en helix i tørt vær og retter seg ut i fuktig vær. Dette bidrar til å borre frukten ned i jorda. Sporangiene hos sisselrot (*Polypodium vulgare*) har en ytre annulus som sprer sporer med en fjærlignende mekanisme. Innerveggene i annulus er fortykket, mens ytterveggene er tynne. Når vann fordamper fra ytterveggene spennes fjæra og sporer kan skytes ut.

## Fototaksis og kjemotaksis

Bortsett fra en rotstokk som vokser sakte gjennom jorda og dør bakerst, så kan ikke en plante skifte tilholdssted. Intracellulært har organeller derimot mulighet til å forflytte seg. Spermcellene hos bregner kan bevege seg mot egget vha. flageller. Det samme gjelder gameter hos alger. Fotosyntetiske bakterier, diatoméer og flagellater kan forflytte seg i vannmassene. Bevegelsen kan skyldes glibevegelser i en slimkappe, gassvakuoler, flageller eller cilier. Retningsbestemte forflytninger kalles taxis og kan avhengig av retningen være positiv (mot) eller negativ (vekk fra). Forflytning av spermatozoider følger en kjemisk konsentrasjonsgradient mot egget og er eksempel på kjemotaxis.

Bevegelig organismer kan respondere på hvilken retning lyset kommer fra, kalt fototaksis. Ved både fototaksis og fototropisme deltar en blåttlysreseptor.

Fotosyntetiske bakterier kan ikke registrere fra hvilken retning lyset kommer, men reagerer på lys og mørke. De skyr mørke og er **fotofobe**.

## Cytoplasmastrømning og flytting av organeller

Cytoplasma sirkulerer og roterer i cellene. Skades en cellevegg beveger cellekjernen seg mot skadestedet. Kloroplastene kan flytte seg til det stedet i cellene hvor de får optimal belysning. I svakt lys ligger kloroplastene parallelt med overflaten. I sterkt lys flytter de seg langs celleveggene som går normalt mot overflaten for å beskytte seg mot det intense lyset. *Mougeotia* er en alge med en plateformet kloroplast som kan

dreie seg avhengig av polariteten til lyset. Cytoplasmastrømning og flytting av plastider er skyldes myosinproteiner som beveger seg langs polare aktinfilamenter fra cytoskjelettet. Ved celledeling flyttes kromosomene i cellene vha. spindelapparatet med mikrotubuli.

## Thigmomorfogenese - planter som ristes blir mer kompakte

På begynnelsen av 1970-tallet startet plantefysiologen Mordecai J. Jaffe å undersøke hva som skjedde med planter når man gned bladene mellom fingrene. Overraskelsen var stor da plantene som ble gnidd bare ble halvparten så høye som de som fikk stå i fred. Plantene ble korte, kompakte og bredde seg mer utover når de ble mekanisk plaget. Det samme skjer når planten blir ristet kraftig. Utendørs vil kraftig vind virke på samme måten og gi lave kompakte planter. Det kan være grunnen til den krypende veksten hos planter i fjellet. Planter i værharde strøk får en vekstform vekk fra den fremherskende vindretningen. Kraftig vanning og stadig berøring av plantene med forskjellig redskap vil ha samme effekten. Tynne, høye og slanke planter som vi finner innendørs i drivhus er på en måte unaturlige siden de ikke blir utsatt for vær og vind som sine kortere slektninger utendørs. Hva er det som skjer ved slik mekanisk berøring? Vi kan ikke se noen ytre skader på plantene så ingenting tyder på at noe er ødelagt. At stengelen blir tykkere og kraftigere kan tyde på at plantehormonet eten ihvertfall deltar. Noen planter synes å tåle tråkk svært godt. Groblad, tunrapp og tungras er slike planter. Planter i fjellet med liten årlig tilvekst er svært sårbare overfor tråkk.

## Økofysiologi

Plantene utsettes for svingninger i et ytre miljø, og har gjennom biologisk evolusjon tilpasset seg abiotisk og biotisk stress. **Stress** er ytre faktorer som har negativ påvirkning på plantevekst. **Stresstoleranse** er plantenes evne til å hanskes med, sett fra vårt ståsted, ugunstige miljøforhold. Noe som representerer et stress for en art behøver ikke gi stress hos en annen adaptert art. Eksempler på stress er høyt saltinnhold i jorda, kulde og frost, høy temperatur, oksygenmangel i jorda, lav eller høy pH, næringsmangel, luftforurensninger, plantepatogener, herbivore dyr og tungmetaller. Det kan være felles respons på forskjellige stress. Froststress kan gi osmotisk stress. Vannmangel kan gi varmestress i skuddet og saltstress for røttene. En plante er aklimatisert eller herdet hvis stresstoleransen øker som resultat av prosesser før stresset. Adapsjon er en genetisk endring i populasjonen via naturlig seleksjon, en genetisk bestemt tilpasning i fysiologi, biokjemi, anatomi og morfologi ervervet gjennom seleksjon og evolusjon gjennom mange generasjoner. Adapsjon gir tilpasning til voksestedet. Individene kan også respondere individuelt. **Akklimatisering** trenger ikke å ha en genetisk endring, og er det samme som **fenotypeplastisitet**. Planter har mekanismer som gir stor fleksibilitet til å takle forskjellige typer stress. **Krysstoleranse** vil si at toleranse for et stress induserer

samtidig aklimatisering for et annet stress. Dyrefysiologen Victor E. Shelford kom med en toleranselov for utbredelse som sa at utbredelsen bestemmes av den omgivelsesfaktor som organismen har minst toleranse for. Det er ikke lett å bestemme toleransegrenser. Organismenes fysiologi sørger for å opprettholde et relativt stabilt og konstant indre miljø (homeostase), og virker som en buffer mot endringer. Fysiologiske prosesser skjer med forskjellig hastighet ved forskjellig temperatur. Noen arter har brede toleransegrenser (eury, gr. *eurys* - bred, vid) og noen har smale (steno, gr. *stenos* - smal). Aklimatisering er tilpassing til endringer i fysisk-kjemiske miljøet.

## Frostskader- iskrystaller og dehydrering (frosttørke)

"Kvar vart det taa alle dei blomar, som stod og nikka i ljøs og i ange?" Per Sivle "Haust".

"Han ville finne ut om plantenes vandring.. Alle planter var på vandring, nordover eller sydover, op eller ned; de prøvde alle veier, var en vei stengt tok de en annen, fremover og utover til alle kanter vilde de;...det var disse bitte små mosene og lavene som først nådde hit op; de kunde leve av bare sol, de var solens første barn; og de bygde bro og la ned mat for de større som kom etter, og til slutt kom skogene etter i tung marsj. ... lange vintertider, som stanset dem og drev dem tilbake." Fra Hans Aanrud: Sølve Solfeng

Plantene kan deles inn i grupper etter hvordan de er tilpasset vinteren:

- 1) **Ettårige planter** som overvintrer i form av frø. **Vinterrettårige** er planter som spirer om høsten og overvintrer som frøplanter.
- 2) **Toårige planter** overvintrer i form av en bladrosett. Disse plantene trenger lav temperatur i en lengre periode (**vernalisering**) for å kunne blomstre neste sommer. Flere rotgrønnsaker som gulrot, kålrot og rødbete er eksempler på slike planter. Andre eksempler er høstrug og høsthvete som sås om høsten, og må igjennom en kuldeperiode for å kunne sette blomster (aks) neste sommer.
- 3) **Flerårige planter**. Noen kan overvintre under jorda i form av rot, knoller eller rotstokk. Snø vil i tillegg virke isolerende. Eviggrønne frosttolerante planter har blader eller nåler som er tilpasset vintertørke med glinsende tykke læraktige blad eller nåler. Det er gunstig med et stort volum i forhold til overflaten. Utvidelsen av vann som fryser kan gi **frostsprekker** på stamme og greiner hos trær, spesielt hos løvtrær som spisslønn og rogn, og kuldefølsomme frukttrær. På kanten av sprekken lages det nytt delingsvev som lager sårvev. Andre mekaniske frostskader kan være frostheving hvor røttene mister kontakt med den underliggende jorda.

**Vekstavslutning** induseres ved kortere dager og lavere temperatur, og er starten på

herdingsprosessen. Akklimatiserende faktorer fraktes fra blad til stamme. Celler i første herdingsstadium tåler temperatur lavere enn 0°C, men er ikke fullt herdet. Vann fraktes vekk fra xylem for å hindre frostsprekker. Det andre stadiet i herdingsprosessen har frost som stimulus. **Frosttoleranse** skyldes evne til underkjøling, sakte dehydrering og evne til å tåle dehydrering, samt evne til å rehydrere når temperaturen øker. Noen trær kan akklimatiseres til å tolerere meget lav temperatur. Om vinteren kan gran og bjerk ha **dyp underkjøling** ned til -48°C uten at det dannes iskrystaller inne i protoplastene (symplast), mens alt vann i apoplast er frosset. Celleveggen er en barriere mot iskrystallene i apoplast. Iskrystallene i apoplast fortsetter å vokse hvor det kommer ufrosset vann fra protoplasten. Vanndamptrykket over is er lavere enn vanndamptrykket over underkjølt vann ved samme temperatur, og gjør at vann beveger seg mot iskrystallene. Herding med lavere vanninnhold i plantene gjør at de bedre tåler lav temperatur. Abscisinsyre deltar i frostakklimatisering og induserer frosttoleranse, hvor flere gener induseres. Flere enn 100 gener oppreguleres ved kuldestress.

**Antifrysproteiner** dannes ved lav temperatur og binder seg til overflaten av iskrystaller og hindrer dem i å vokse. Antifrysproteiner gjør at overgang fra vann til is skjer ved lavere temperatur enn overgang fra is til væske. Antifrysproteiner virker som termisk hystereprotein og hører med til gruppen endokitinaser/endoglukanaser. I planter av høstrug dannes antifrysproteiner i epidermis og celler nær intercellularrom. Sukker og kuldeinduserte proteiner gir kryobeskyttelse, samt stabiliserer proteiner og membraner ved dehydrering. Sukrose, raffinose, fruktaner, sorbitol og mannitol kan akkumulere ved lav temperatur.

Blad- og blomsterknopper har beskyttende knoppkjell og har evne til underkjøling. Lav frosttoleranse i blomsterknopper gir redusert avling etter en vinter med lav temperatur. overlever kuldeperioden

**Iskjernedannende proteiner** fremmer dannelse av iskrystaller. Slike proteiner kan finnes i planter, men bakteriene *Pseudomonas syringae* og *Erwinia herbicola* som lever på overflaten av blader kan også danne iskjernedannende protein kodet av et iskjernedannende gen (ING). Iskjernedannere gjør at plantene fryser raskere og gjør derved celleinnholdet i plantene tilgjengelig for bakteriene. Genmodifiserte bakterier uten *ING* har blitt forsøkt brukt på jordbær for å utkonkurrere native iskjernedannende bakteriestammer.

## Om vann og is

For å kunne overleve vinteren må planter og dyr ha en spesiell fysiologi, form (morfologi) og/eller atferd. **Frostskader** oppstår ved temperatur lavere enn frysepunktet som følge av dannelse av is i vannholdige løsninger inne i celler. Alt liv er bygget opp av celler, og for organismer som skal overleve frost er det helt vitalt og livsnødvendig at vann ikke fryser inne i cellene, men utenfor. Iskrystaller og dehydrering av protoplasten dreper cellene. Vann utvider seg når det fryser og lager iskrystaller.

Tørt frø og dehydrert vev kan kjøles ned i flytende nitrogen og opprettholder

viabiliteten etter tining. Rask oppvarming av frosset vev hindrer små iskrystaller i å vokse seg store. Fullhydrert vev tåler nedfrysing bedre hvis den skjer raskt og iskrystallene blir små.

Når det dannes is går vannmolekylene fra en tilfeldig plassering til et mer ordnet system. I is er hvert vannmolekyl bundet til tre andre vannmolekyler med **hydrogenbindinger**. Vannmolekylene er plassert slik at de danner 6-kanter (heksagonale). Vann behøver imidlertid ikke å fryse ved fryse- og smeltepunktet, og blir da **underkjølt**. Rene små vandrdåper kan underkjøles ned til  $-38^{\circ}\text{C}$ . Vann med oppløste stoffer fryser ved en lavere temperatur enn  $0^{\circ}\text{C}$ , og får et lavere **frysepunkt**/smeltepunkt. Vannet i planteceller som inneholder oppløste stoffer kan underkjøles til ca.  $-47^{\circ}\text{C}$ . Tilføres det noe som kan tjene som utgangspunkt for iskrystalldannelse fryser den underkjølte løsningen meget raskt. Iskjerner katalyserer overgangen fra vann til is. Hvis en vannholdig væske kontinuerlig mister varme vil temperaturen gå under frysepunktet til underkjølingspunktet.

Vannet har størst **spesifikk vekt** ved  $4^{\circ}\text{C}$  og synker til bunnen, men fryser på vannoverflaten. Straks isen fryser ved iskjerne temperaturen vil varmen fra krystalliseringen frigis, og temperaturen stiger mens vannet fryser. For å hindre nattefrost i en dårlig potetkjeller i gamle dager kunne man sette ut bøtter med vann. Vannet som frøs i bøttene kunne frigi så mye varme at det hindret potetene i å fryse (Le Chateliers prinsipp).

Hvis vann fryser til is inne i levende celler vil **iskrystallene** ødelegge mikroarkitekturen og membranene, og cellene dør. Iskrystallene vil punktere blodkar. Når vannet fryser vil det også gi tørke (**vintertørke**, dehydrering). Dehydreringen gir membranskader. Frosttoleranse kan utvikles ved kuldeaklimatisering. En aklimatisering ved temperaturer like over  $0^{\circ}\text{C}$  en periode gjør at planter kan tåle mange kuldegrader. Organismer som er tilpasset frosttemperatur sørger for at vann fryser til is i hulrom mellom cellene utenfor cellemembranen.

Snø virker varmeisolerende. Underjordiske plantedeler kan være dekket av et isolerende lag med strøfall og snø. En lang periode med barfrost kan få uheldige virkninger på organismer som er tilpasset å leve under et isolerende snølag.

Alle livsprosessene går saktere ved lav temperatur fordi molekylbevegelsene påvirker hastigheten til reaksjoner. Temperatur er noe vi måler med et termometer hvor vi baserer oss på at en blanding med rent vann og is alltid vil gi samme temperatur ( $0^{\circ}\text{C}$ ). Fysiologisk temperatur er for oss koblet til hva vi føler er varmt eller kaldt. Varme skyldes bevegelsesenergien til atomer og molekyler. For to objekter som er i kontakt med hverandre og har forskjellig temperatur vil varme gå fra det varmeste stedet til det kaldeste slik at det til slutt blir termisk likevekt. dvs. begge har samme temperatur.

Varme kan overføres fra et sted til et annet via:

1) **Infrarød varmestråling** (svart stråling). Alle objekter på jorda som har høyere temperatur enn det absolute nullpunkt ( $-273.15^{\circ}\text{C}$ ), den laveste temperatur som kan oppnås i universet, vil sende ut varmestråling. Det er denne strålingen vi måler med et varmekamera. Varmestrålingen øker sterkt med temperaturen, i fjerde potens av temperaturen (**Stefan-Boltzmanns lov** for stråling).

2) **Varmestrømning** (konveksjon). Varmestrømning er et resultat av turbulente bevegelser i luft eller vann omkring et objekt. Det kan være fri varmestrømning som skyldes at varm luft fra overflaten av objektet stiger og luft kommer inn fra siden og gir avkjøling. Påtvunget varmeledning skyldes vind, og dette er den mest effektive måten varme kan fjernes fra et objekt. Hår og fjær lager et isolerende luftlag slik at varmen ikke tapes så lett ved varmestrømning. Stillestående luft fungerer som en varmeisulator. På grunn av varmestrømningen kan kombinasjonen kald luft og vind gi en dødelig virkning.

3) **Varmeledning** (konduksjon). Varmeledning skyldes termiske kollisjoner mellom molekyler. Noen stoffer er gode varmeledere f.eks. sølv, og noen er isolerende f.eks. treverk. Sammenlign en sølvskje og treskje i en kopp varmt vann. Gode varmeledere frakter også lett elektroner. Varmeledning har mindre betydning for strålingsbalansen hos plantene, men vil ha betydning for en varmestrøm inn i en trestamme. Varmestrømmen er proporsjonal med temperaturforskjellen og varmeledningsevnen til treet. Generelt gjelder **Fouriers lov** for varmeledning.

4) **Fordampning av vann** krever varme og gir et varmetap fra objektet som mister vann ved transpirasjon, og blir derved nedkjølt. Vann har høy latent **fordampningsvarme**, det vil si at det trengs mye energi for å omdanne vann til vanndamp. Fordampningsvarmen går vesentlig med til å bryte hydrogenbindinger i vannet. Vann har også høy spesifikk **varmekapasitet**, det vil si den varmen som trengs for å heve temperaturen 1°C for en gitt masse.

Ifølge en av varmelovene kan energi verken skapes eller ødelegges, den kan bare skifte form og blir mindre og mindre tilgjengelig. Jorda mottar kortbølget solstråling som absorberes av objektene på jorda. Den absorberte energien blir sendt ut igjen, og en del av varmeenergien blir absorbert av vanndamp og karbondioksid i atmosfæren (**drivhusgasser**). En klar vinternatt har lite vanndamp og skyer i atmosfæren og derav blir avkjølingen av jorda sterk, sammenlignet med en overskyet natt.

Organismene kan velge forskjellig strategi for å kunne overleve en kald vinter:

- 1) Dø, men etterlate seg overlevelsesorganer.
- 2) Flytte seg til varmere områder.
- 3) Forbli aktive og adaptert til lav temperatur
- 4) Gå inn i hvile.

Organismene som forblir aktive ved lav temperatur må være frosttolerante ved at

- 1) de tåler at kroppsvæsken fryser i apoplast (intercellularrom, cellevegger og xylem). En lang periode med iskrystaller i apoplast kan gi dehydrering.
- 2) de hindrer kroppsvæsken i å fryse ved å produsere en "frostvæske" som senker frysepunktet.

Hos mange planter dør de overjordiske delene den første frostnatten om høsten. De ettårige plantene dør helt, men overlever som frø. Trær og busker som ikke kan gjemme seg under snøen starter vinterforberedelsene allerede tidlig på høsten, når dagene blir kortere og nettene lenger. Fytokrom registrerer at døgnrytmen endrer seg. Fytokrom i planter i Nord-Norge må reagere på en annen daglengde enn fytokrom i en plante i Sør-Norge. I bladhornene ligger ferdige vinterknopper med anlegg for neste års blad og blomster. Klorofyllet i bladene forsvinner og planten tar vare på nitrogen og karbon som er i klorofyll. Trærne er nødt til å kvitte seg med bladene fordi disse er tilknyttet treets vannledningssystem. Greinene blir stående nakne og anonyme igjen. Da treet ikke kan få tak i vann fra den frosne jorda ville vanntap fra bladene ha ført til tørkeskader. For å kunne overleve vinteren må plantene være istand til å tåle at vannet fryser til is. At vannet virkelig er frosset til is i grener og stammer vet alle som har hugget ned trær om vinteren. Når nettene blir lenger går de flerårige trær og busker inn i vekst avslutning og blir kuldeherdet. Kuldeherdete planter overlever lav temperatur og unngår frostskafer. Mange planter dør av frostskafer hvis temperaturen blir lavere enn  $-1$  -  $-5$  °C, mens de første vårplantene tåler godt slike temperaturer. Følsomheten for frost varierer med årstiden, og plantene er minst følsomme for frost vår og høst. Bartrær som er herdet tåler 30-40 kuldegrader uten å ta skade. Mange to og flerårige planter unngår vinterkulden ved å danne overvintringsorganer som knoller, jordstengler og frø. Problemet med temperaturer under 0 °C er at det kan dannes iskrystaller inne i plantecellene. Iskrystallene virker som spisse nåler som stikker hull på membranene og ødelegger cellene. Plantene som er tilpasset lav temperatur sørger for at iskrystallene dannes mellom cellene og i celleveggen. Vann i cellene vil som følge av dette bevege seg ut av cellene og slå seg ned på den allerede eksisterende isen. Det er dette stedet det er kaldest. Vann beveger seg fra et sted med høy temperatur til stedet med lavest temperatur. Det er i prinsippet det samme som skjer når man glemmer å lukke døren til fryse- eller kjøleskapet. Da legger all fuktighet seg på kjøleelementene i skapet og danner is. Utenfor cellene gjør iskrystallene ingen skade. Kuldeherdigheten består også i at celleinnholdet tåler uttørking godt. Vannet vil bevege seg ut av cellene og innholdet vil skrumpe inn. Dette betyr at frysepunktet blir lavere for det innholdet som er igjen i cellene. Vannet slår seg ned og fryser til is i cellevegg og mellom cellene når kuldegradene kommer. Stiger temperaturen går vannet tilbake til plantecellen hos herdige planter. Man kan se hvordan dette fungerer hos Rhododendron hvor bladene henger ned langs stengelen ved lav temperatur og reiser seg opp ved høyere temperatur. Dette skyldes vann som vandrer ut og inn av plantecellene avhengig av temperaturen. Cellenes sukkerinnhold kan også øke ved lav temperatur, slik man har hos poteter som blir lagret ved kuldegrader. Sukkerinnholdet gjør at vannet i cellene ikke fryser så lett. Faktorer som øker veksten f.eks. sterk nitrogen gjødsling i slutten av vekstsesongen minsker plantenes evne til å bli herdet. Men det er ikke bare den lave temperaturen om vinteren som skaper problemer. Det gjelder også vanntilgangen. Når jorda er frosset og plantene fortsetter å miste vann er det mulighet for at plantene kan dø av tørkeskader. Blir det frost for tidlig om høsten felles ikke bladene på vanlig vis. Avkastninglaget i enden av bladstilken dannes når dagene blir kortere og temperaturen synker. Bartrærne gran, furu, eiker og barlind, unntatt lerk som er et innført tre, kan ha nålene på om vinteren. Nålene er konstruert for å tåle



tørke. Lav vintertemperatur begrenser utbredelsen av mange plantearter. Bartrærne har stor utbredelse der vinteren er lang og kald, men bjerka kan også være en god konkurrent.

Mose har optimal fotosyntese ved 5 °C. Moser tåler godt frysing. Vannet fryser utenpå mosen og mosen har liten intern vanntransport. Vannet beveger seg via kapillarkrefter oven- og nedenfra. Moser danner ofte tette matter og vannet går rett inn i bladet. Moser tørker lett ut, men om nettene reduseres vanntapet i forhold til et enkeltindivid.

## Kjøleskader - banan i kjøleskapet

Planter kan få skader av lav temperatur mye før temperaturen nærmer seg frysepunktet for vann og **frostskader** oppstår. Særlig tropiske planter og andre som er tilpasset å vokse på steder med høy temperatur kan få **kjøleskader**. F.eks. tropisk frukt, soyabønne, bomull, agurk, søtpotet og ris. Kjøleskader opptrer når temperaturen er mellom 1 og 13 °C, det vil si før vann fryser. Kjøleskader gis redusert vekst, misfarging, bladlesjoner og vasstrukne blad. Membranene i planten ødelegges når temperaturen blir lavere. Kuldefølsomme planter har høyt innhold av mettet fett i membranene sammenlignet med kulderesistente planter med større andel umettet fett i membranene. Ved avkjøling blir monoumettet fett blir fast før flerumettet fett, og gjør membranen mindre flytende. Kjøleskadene blir mindre utpreget hvis avkjølingen skjer gradvis og sakte over lang tid. En plutselig avkjøling ned mot 0°C gir en kuldesjokk i tropiske planter. Høy fotonfluks sammen med kjøling gir fotoinhibering. Hva som skjer med en banan som har ligget i kjøleskapet er et typisk eksempel på kjøleskader.

## Rød snø

I fjellet kan man enkelte ganger se rødfarget snø om våren og forsommeren. Dette skyldes masseforekomst av aplanosporer fra grønnalgen *Chlamydomonas nivalis*. Rødfargen skyldes ketokarotenoidet **astaxanthin** som er en oksidert form av  $\beta$ -karoten. Astaxanthin finnes også hos fugl, krepsdyr og gir rødfarge på kjøttet i laksefisk som spiser krepsdyr. Man antar at nitrogenmangel og høy lysintensitet gir akkumulering av pigmentet i *Chlamydomonas nivalis*.

## Varmestress

Høy bladtemperatur og lav transpirasjon gir varmessstress. Få planter i aktiv vekst overlever mer enn 50°C over lang tid, bortsett fra pollen som overlever 70°C og frø som kan overleve 120°C. Encellede eukaryoter kan tåle 50°C, men varmetilpassete prokaryoter kan vokse ved høyere temperatur enn 70°C. Planter kan adapteres til økt temperatur (ervert termotoleranse) ved å få en kort periode med subletalt varmessstress, som gir overlevelse ved temperatur som ville ha vært letale uten denne forbehandlingen.

**Temperaturkompensasjonspunktet** er den temperaturen hvor mengden CO<sub>2</sub> fiksert ved fotosyntesen er lik mengden CO<sub>2</sub> frigitt ved respirasjon. Ved temperatur

over temperaturkompensasjonspunktet tapes karbohydrater og frukt og grønnsaker blir mindre søte. Med økende temperatur øker respirasjonen hos C3-planter (både fotorespirasjon og mørkerespirasjon) mer enn hos C4- og CAM-planter. Høy temperatur gir mer flytende membranstruktur som kan gi ionelekkasjer. Aklimatisert tørketilpasset oleander (*Nerium oleander*) som vokser langs veier i middelhavsområdet har høyt innhold av mettet fett i membranene. Varmestress hemmer H<sup>+</sup>ATPase og gir forsuring av cytoplasma. Det blir laget **varmesjokkproteiner** (hsp) ved høy temperatur. Varmesjokkproteiner er molekulære chaperoner som gjør at denaturerte og feilfoldete proteiner aggregeres og utfelles, men gir også riktig folding av protein og hindrer feilfolding. Varmesjokkproteiner dannes raskt når temperaturen går fra 25 til 45°C, men dannes også ved sakte økning i temperatur. Det er forskjellige varmesjokkproteiner i cellekjerne, kloroplaster, mitokondrier, endoplasmatisk retikulum og cytosol. HSP60, HSP70, HSP90 og HAP100 er chaperoner som deltar av ATP-avhengig stabilisering og folding av proteiner. Noen varmesjokkproteiner deltar i transport av polypeptider over membraner. Det er fem hovedgrupper varmesjokkproteiner inndelt i størrelse fra 15-104 kDa (kilodalton). 15-30 kDa HSP er mest vanlig i planter. Celler med varmesjokkproteiner har økt termotoleranse. Flere signalveier deltar for å gi økt termotoleranse via abscisinsyre, salicylsyre, og varmesjokkproteiner.

Bare en liten del av den solstrålingen bladene mottar fra sola blir brukt i fotosyntesen og blir lagret som kjemisk bundet energi.

Omtrent 20 % av det lyset som treffer et blad reflekteres eller går rett igjennom. 40 % går med til å fordampe vann og 35 % går med til å varme opp bladet. Bare 1-5% av lysenergien brukes i fotosyntesen. Skulle klorofyll tatt opp mest mulig lys burde det ha vært svart.

Det lyset som ikke blir reflektert og ikke går igjennom gir oppvarming av bladet. Bladtemperaturen kan være 4-5°C over lufttemperaturen midt på dagen, som kan gi middagsdepresjon og lukking av spalteåpningene. Planten kan fjerne denne varmen ved å fordampe vann, ved å sende ut infrarød varmestråling eller ved at varme diffunderer gjennom **grenselaget**. Jo raskere luften kan bevege seg forbi et blad jo tynnere blir det stillestående luftlaget rundt plantene. Tynne smale blad vil miste mye varme ved konveksjon. Tykkelsen på det luftstille laget påvirkes av vindhastigheten og størrelsen av bladet. Kjøleeffekten ved transpirasjonen er avhengig av vanntilgangen. Blir vanntilgangen for dårlig kan bladtemperaturen stige til skadelige høyder. Da lønner det seg å ha blad av en form som fremmer varmeoverføring ved konveksjon. 2-10 % av vanntapet via transpirasjonen foregår gjennom kutikula. Resten reguleres via spalteåpningene. Om dagen når sola skinner kan bladtemperaturen bli opptil 20°C høyere enn temperaturen i omgivelsene. Dette gir oppvarming av luften over bladet som får mindre tetthet og stiger til værs. Ny luft kommer til og gir en flyt av luft forbi bladet. Ved sterk solinnstråling kan det hende at vanntapet blir større enn vanntilgangen slik at spalteåpningene lukker seg og fotosyntesen nedsettes. Dette fenomenet kalles middagsdepresjon. I skygge kan transpirasjonen kjøle bladet til under lufttemperaturen. Bladtemperaturen kan bli så lav at det kondenseres dugg på bladene. Nå vil bladet motta varme fra omgivelsene (konveksjon). Hvis bladet blir varmere enn omgivelsene vil bladet kunne transpirere selv om luften er mettet med vanddamp. Vannet ut fra plantene vil kondenseres som

tåke et stykke fra bladet. Vi kan se dette når sole dukker oppetter regnvær. Når plantene lukker spalteåpningene om natten vil dette i tillegg til redusert vanntap også bety at bladtemperaturen ikke synker for mye om natten slik at planten kan opprettholde høyt stoffskifte om natten. I fjellet og i arktiske strøk er det ingen fordel å bli nedkjølt når luften rundt plantene er kald. Planter i slike strøk har ofte store mengder hår som øker grenselaget og gir derved redusert varmetap. Plantene vokser i lave tuer eller rosetter som reduserer vindhastigheten rundt plantene. Dette øker bladtemperaturen både 20- 30 °C i forhold til lufttemperaturen noe som gir store fordeler for planten i kalde arktiske og fjellstrøk. Dette indikerer at transpirasjonen ikke gir noen spesiell kjølede effekt. Alle planter har en minimumstemperatur de kan klare seg ved. De har dessuten en optimal temperatur hvor de trives best og en maksimaltemperatur over hvilken de dør. Disse temperaturene varierer fra art til art og innen klimarasen av en art. Optimumstemperaturen for en plante i lavlandet kan være fra 25- 35 °C. Temperaturen påvirker enzymene i planten. Svingninger i dag- og nattetemperaturen påvirker planter og de fleste trives best hvis nattetemperaturen er lavere enn dagtemperaturen. Mest ekstremt sees dette hos tomat som får redusert fruktsetting hvis de får sammenhengende lys og høy nattetemperatur. Det er også års- og sesongvariasjoner i temperaturen. Ikke overraskende har nederlenderene gjort mange undersøkelser av løkplanter som tulipan og påskeliljer. De forskjellige utviklingsstadiene av løken setter spesielle krav til temperaturen. Løken må etter avblomstring være ved ca. 20 °C i tre uker for at blomsten skal bli laget ferdig. Så må temperaturen senkes til 9 °C i 14 uker. Så må blomsten tilbake til 20° C for å få normal utvikling.

## Saltplanter - halofytter

Halofile (saltelskende) planter er tilpasset å vokse på steder med høyt saltinnhold i jorda. Halofytter er salttolerante planter i motsetning til saltskyende **glykofytter** som får vekstreduksjon hvis det er for mye salt. Eksempler på landbruksvekster som er glykofytter er mais, ris, løk, salat og bønner. Bygg og bomull er moderat salttolerante, mens daddelpalme (*Phoenix dactylifera*) og sukkerbete (*Beta sp.*) er salttolerante. Det er høye saltkonsentrasjoner ved kysten og i estuarier med brakkvann. Salt forekommer naturlig langs havstrender som blir oversvømt av sjøvann eller påvirket av sjøsprøyt. **Salinisering** gir økt innhold av salt i jorda ved at irrigasjonsvann fordampes og bringer med seg salt til jordoverflaten, - et vanlig problem ved kunstig vanning i områder med stor evapotranspirasjon. Mye landbruksjord er ødelagt ved salinisering. Allerede sumererne var oppmerksom på problemet med antropogen salinisering og redusert plantevekst. Sjøsprøyt av sjøsaltavsetning fra havet kan skje langt inn over land. En ny kilde til salt er veisaltning, hvor enorme mengder salt spres over veinettet for at bilene skal kunne kjøre med piggfrie vinterdekk, med tilhørende enorme og kostbare korrosjonsskader på biler og armeringsjern i betong i bruer og garasjeanlegg. Døde trær i store mengder kan hver vår observeres langs de mest trafikkerte veiene. I tillegg forurenses grunnvannet. Salt kan gi osmotisk stress, i tillegg til ioneeffekter og cytotoxiske effekter av natrium (Na<sup>+</sup>) og klorid (Cl<sup>-</sup>)

**Saltsjøer** inneholder spesielle salttolerante alger og bakterier.

For at plantene skal kunne ta opp vann fra jorda må vannpotensialet i røttene være lavere enn i jorda. Saltet gjør at vannet blir mindre tilgjengelig for plantene. I tillegg kan saltene gi toksisk virkning og skape en ubalanse i ionekonsentrasjonen i plantene. **Saltvann** inneholder mest saltene natriumklorid (NaCl) og magnesiumsulfat (MgSO<sub>4</sub>). Natrium påvirker jordstruktur, porøsitet og vannpermeabilitet. Hard sodajord kalles caliche. Salinitet er høy total saltkonsentrasjon. Sodisitet sier noe om innholdet av natrium (Na<sup>+</sup>).

Plantene har forskjellig evne til osmotisk tilpasning til tørke og høyt saltinnhold i jorda. Mangrove er et samlenavn på mange arter (halotrær) som vokser i saltvann langs kystene i tropiske og subtropiske områder. Mangrove er osmotisk tilpasset for å kunne ta opp vann fra omgivelser med lavt vannpotensial.

## Fysiologiske tilpasninger og vekststrategier

Saltstress gir osmotiske effekter og ionetoksisitet. Salt reduserer fotosyntese og vekst hos glykofytter. Tørketilpasning er en del av salttoleransen. Felles for mange av strandplantene er sukkulent vekstform med saftfylte tørketålende blad f.eks. salturt, strandstjerne og saftmelde. Arter i bl.a. slekten *Sedum* har ekte sukkulens koblet til CAM-metabolisme i fotosyntesen. Plantene i strandsonen er utsatt for sol og vind, og har derfor tykk epidermis dekket av kutikula og blågråfarget vokslag f.eks. strandrug og strandkål. Salt kan skilles ut aktivt via kjertelhår (saltkjertler) på bladene f.eks. tangmelde, strandkryp, *Atriplex* og *Tamarix*. Eldre blad kan fylles med salt for deretter å dø f.eks. saltsiv, mens meristemer og unge blad beskyttes mot saltet og opprettholder aktiv vekst.

Salttolerante planter inneholder osmotisk aktive stoffer som kan være tilstede i høye konsentrasjonen uten å påvirke metabolismen. Eksempler på slike stoffer er aminosyren prolin, de kvartære ammoniumforbindelsen glycinbetain, sukkeralkoholene sorbitol og mannitol, og pinitol. En annen viktig egenskap ved disse stoffene er at de er nøytrale ved fysiologisk pH. Noen av dem kan i tillegg gi en antioksidanteffekt. Natrium (Na<sup>+</sup>) vil følge passivt med inn i planten på grunn av det negative membranpotensialet inne i cellene. En av grunnene til at Na<sup>+</sup> kan være giftig er at det hemmer opptaket av nødvendig kalium (K<sup>+</sup>). Opptak av natrium (Na<sup>+</sup>) er passiv, så det må brukes energi for å holde natrium ute. For å hindre at natrium akkumulerer i cytoplasma kan natrium fraktes ut ved aktiv transport. Natrium kan fraktes over tonoplasten inn i vakuoler ved hjelp av en Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-antiport.

Serpentin inneholder lite vann, lite mikronæringsstoffer og mange tungmetaller. Plantens evne til å lage fytochelatinere og metallothioniner kan påvirke toleransen for tungmetaller. I jord som inneholder mye selen vil plantene ta opp dette på samme måte som svovel og man får dannet giftige selenoaminosyrer. Råfosfat i kunsgjødsel kan i noen tilfeller inneholde mye kadmium som tas opp av plantene.

## Tørkestress

Et grunt rotsystem er følsomt for uttørking, men kan respondere raskt på nedbør. Et dypt rotsystem kan gå ned til en mer stabil vanntilgang. Vannmangel øker mengden

voks utskilt på bladoverflaten. Tørkestress og varmestress er koblet med hverandre. Redusert bladstørrelse og bladorientering kan gi vannsparing. Bladene kan rulles sammen for å redusere den eksponerte overflaten f.eks. gras. Visning gjør at bladene henger ned og mottar redusert innstråling. Hydropassiv lukking av spalteåpningene for å redusere vanntap skjer ved at vann fordampes direkte fra lukkecellene ut i atmosfæren. Hydroaktiv lukking av spalteåpningene skjer ved at røtter og skudd dehydreres, ioner fraktes ut av lukkecellene etterfulgt av redusert turgor i lukkecellene. Abscisinsyre gir lukking av spalteåpningene ved vannmangel.

Plantene kan ta opp vann så lenge som vannpotensialet i plantene er lavere enn vannpotensialet i jorda. Et mildt tørkestress reduserer fotosyntese og stomatakonduktanse. Cellene og røttene skrumper (cellulær dehydrering) ved vanntap og rothårene skades. Når jorda tørker ut minsker vannkonduktansen inntil permanent visningspunkt ved ca. -1.5 MPa hvor planten ikke lenger kan gjenskape turgortrykk og rehydrere planten. Ved tørke minsker den hydrauliske konduktiviteten, kollaps av cellevegger gir cytorhysis og røttene skrumper. Ved tørke blir den ytre del av cortex i rota, kalt hypodermis (et cellelag under epidermis), dekket av suberin som minsker vanntapet.

Vanligvis er det osmotiske potensialet i planteceller fra en velvannet plante fra -0.8 til 1.2 MPa. Kavitering skjer ved -1 til -2 MPa. Vanddefisitt vil si at vanninnholdet i celler eller vev er lavere enn det høyeste vanninnholdet i fullhydratisert vev. Vanddefisitt minsker vannkonduktansen i planten. Et tilstrekkelig turgortrykk er nødvendig for vekst av celler.

$$vekstrate = m(\Psi_p - Y)$$

hvor  $Y$  er turgortrykket som må overstiges for at celleveggen skal kunne ekspandere,  $\Psi_p$  er trykkpotensialet i cellen (turgortrykket), og  $m$  er celleveggekstensibilitet dvs. evne til å respondere på trykk, og består av en elastisk og en plastisk komponent. Vanligvis er  $Y=0.1 - 0.2$  MPa.

Osmotisk tilpasning opprettholder vannbalansen. Tørkestress gir akkumulering av oppløste stoffer kalt **osmolyter** (prolin, betain, glycinbetain, mannitol, sorbitol) i cytoplasma. Ved å akkumulere osmolyter kan cellene opprettholde turgortrykket som er nødvendig for vekst. Reduksjon i vanntilgangen reduserer veksten av skuddet og øker veksten av rota, og det skjer en fysiologisk adaptering ved bladavkasting å redusere bladarealet i forhold til røttene, hvor abscisinsyre deltar. Noen planter kaster av alt bladverket før tørkesesongen begynner, via nysyntese av etylen. Lite vann betyr at planten må investere mer i røtter og i oppløste stoffer på bekostning av skuddvekst. Røttene vokser så lenge som fotosyntesen i skuddet gir nok fotosynteseprodukter til røttene. Ved vannmangel blir fotosynteseprodukter også kanalisert til frø og frukt. Fotosyntesen er mindre følsom for vannmangel enn veksten av blad. Osmotisk potensial fra -1 til -2 MPa er et mildt vannstress, men fra -2 til -5 MPa er et resultat av betydelig tørkestress. Celler blir flakkede og planten visner når turgortrykket går mot null. Halofytter har lavt osmotisk potensial.

**Tørketoleranse** er plantenes evne til å tåle dehydrering. C4- og CAM-planter har en fotosyntesemetabolisme tilpasset lite vann, og utnytter ressurser i tørre områder

maksimalt. Osmotisk stress og tørkestress kan indusere CAM-metabolisme hos planter som kan skifte mellom C3 og CAM avhengig av vannforholdene. Tørkeunngåere tilpasser veksten i den perioden vann er tilgjengelig, f.eks. regntid eller annen vekstgunstig årstid. Tørkeutsettere har evne til å opprettholde hydratisert vev f.eks. kassava (*Manihot esculenta*) og cowpea (*Vigna unguiculata*).

Osmotisk stress gir endring i genekspresjon av stresskontrollerte gener med økt syntese av vannkanalprotein, varmesjokkproteiner, og enzymer som lager osmolyter,

## Oversvømt jord

Plantene kan bli skadet av både for lite og for mye vann. Jorda kan bli oversvømt av ferskvann, brakkvann eller saltvann og bli **vannsyk**. Vannet gjør at plantene kan få vanskeligheter med å skaffe nok oksygen til røttene. Dårlig drenering av jorda gir redusert vekst. Bladene blir blekgrønne og gule (klorose) og røttene kan dø av mangel på oksygen. Mange stueplanter mistrives hvis de får så mye vann at jorda i potta er konstant gjennomvåt. Røttene får oksygen i gassfase i en veldrenert jord med god struktur. Oversvømt jord med dårlig drenering og overskudd av nedbør eller flom gjør at luftporene i jorda fylles med vann. Ved høy temperatur forbrukes oksygen i jorda raskt. Kritisk oksygentrykk er grenseverdi for oksygenkonsentrasjon før respirasjonen reduseres.

Oksygen brukes som terminal elektronakseptor i respirasjonen i mitokondriene. Ved fermentering er det et organisk stoff som overtar rollen som elektronakseptor. Fermentering gir 2 mol ATP per mol heksose respirert, sammenlignet med aerob respirasjon som gir 36 mol ATP per mol heksose respirert. Skader av anoksis og hypoksis skyldes bl.a. mangel på ATP. Anoksiske røtter absorberer ikke nok ioner til skuddet. Det skjer prematur aldring av gamle blad pga. reallokering av nitrogen, fosfor og kalium. Jorda er **aerob** ved normal oksygenkonsentrasjon. Det kalles **hypoksis** hvis oksygenkonsentrasjonen er så lav at ATP-produksjonen i røttene ved oksidativ fosforylering blir delvis hemmet. Ved **anoksis** (anaerob jord) hvor det ikke er oksygen tilstede lager røttene ATP bare via glykolysen.

Plantene har forskjellig evne til å tåle oversvømt jord, og planter i våtmarksområder, marsklandskap og myr er tilpasset lite oksygen

- 1) Våtmarksplanter har omtrent alltid røttene i vanndekket jord. F.eks. takrør (*Phragmites australis*), kalmusrot (*Acorus calamus*), myrkongle (*Calla palustris*), bukkeblad (*Menyanthes trifoliata*), molte (*Rubus chamaemorus*) og ris (*Oryza sativa*).
- 2) Flomtolerante planter som tåler midlertidig, men ikke permanent oversvømmelse av jorda. F.eks. landbruksvekstene bygg (*Hordeum vulgare*), og mais (*Zea mays*)
- 3) Flomfølsomme planter. F.eks. tomat (*Lycopersicon esculentum*/Solanum lycopersicum).

Våtmarksplanter har et sammenhengende gjennomluftingsvev (**aerenkym**) i rotbarken (**cortex**) som bringer oksygen ned til røttene. Mangrove har **pneumatoforer**, røtter som vokser negativt gravitropisk og frakter oksygen. Planter som tåler korttidsoversvømmelse kan midlertidig tilpasse seg oversvømt jord ved å lage aerenkym **lysogent** ved celledød eller **shizogent** ved atskillelse av celler. Etylen



gir desintegrasjon av celler i rotcortex via kalsium.

Den delen av stengelen som er oversvømt kan swelle og danne **adventivrøtter** med aerenkym. Korkporer (lenticeller) kan øke i størrelse (hypertrofi) for å øke lufttilgangen. Ved anaerobe forhold øker gjennomstrømningen av sukker via glykolysen (**Pasteureffekt**) i røttene. Sukker kan komme fra nedbrytning av stivelse eller fra floemet. Ved fermentering lages ATP ved substratfosforylering og endeproduktene er enten **etanol** eller **laktose** (melkesyre). Andre endeprodukter ved hypoksis er  $\gamma$ -aminosmørsyre, succinat og alanin, som kan redusere mulige skader forårsaket av acidose. Melkesyre gjør at pH synker i cytosol og cellene kan dø av **acidose** hos flomfølsomme planter. Plantene har også forskjellig tåleevne for økende konsentrasjoner av etanol. Etanol er, i motsetning til laktose, uladet og kan diffundere gjennom membraner. Overgang fra aerob til anaerob metabolisme endrer uttrykket av flere gener. Det blir bl.a. økt eksepresjon for genet som lager **alkohol dehydrogenase**.

Lave konsentrasjoner av oksygen vil hos flomtolerante planter øke biosyntesen av plantehormonet **etylen**. Det blir økt mengde av enzymene 1-aminosyklopropan-1-karboksylysyre (ACC) syntase og ACC oksidase som deltar i etylensyntesen. Siden oksygen er nødvendig for å omdanne den sykliske aminosyren ACC til etylen, noe som ikke kan skje ved oksygenmangel, kan ACC fraktes opp i skuddet og bli omdannet til etylen. Et resultat er **bladepinasti**. Hos vannliljer og ris gir etylen økt strekning.

Anaerobe forhold rundt røttene kan gi toksiske effekter av toverdig jern ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Planter som kan frakte oksygen til røttene har mulighet til å felle ut jernet som uskadelig brunfarget treverdig jernoksid ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ). Anaerobe sulfatreduserende bakterier bruker sulfat som elektronakseptor og omdannes til illeluktene hydrogensulfid som kan virke som en respirasjonsgift. Butyrat og acetat kan akkumulere i jorda hvis det er nok organisk materiale og kan bidra til vondt lukt.

## Solplanter og skyggeplanter

*"Hvor granskogen staar rank, læg i læg, bort igjennom lien, bliver der liden plads til andre vekster,-..."*

*"Og granens tætte skygge udrydder enhver vekst paa skogbunden. Kun den blege sop finder der et tilholdssted".* Fra J.H. Borrebæk: Planteskitser. Jakob Dybwads Forlag. Kristiania 1903.

Plantene har forskjellig krav til hvor mye lys de trenger for å vokse. Plantene kan deles inn i **fotoøkotyper**:

- 1) Skyggeplanter (sciofytter)
- 2) Solplanter (heliofytter)

Obligate skygge- og solplanter har liten evne til adaptasjon til andre lysbetingelser. Fakultative solplanter kan tilpasse seg til skygge, men ikke i like stor grad som skyggeplanter. Plantene har forskjellig respons på vegetasjonsskygge ("grønn skygge") og "nøytral skygge" fra andre objekter.



Eksempler på skyggeplanter er gjøkesyre (*Oxalis acetosella*), myske (*Galium odoratum*), springfrø (*Impatiens noli-tangere*), sannikel (*Sanicula europaea*), trollurt (*Circaea alpina*), moser og bregner. Disse klarer å vokse under ett tett løvverk, men hogges skogen vil disse plantene etterhvert forsvinne. De tåler ikke det sterke direkte sollyset. Blad tilpasset sterk sol eller ekstrem skygge overlever ikke under andre lysbetingelser. Noen planter er fleksible og ved akklimatisering kan de adapteres til å vokse i skygge eller sterkt sollys via biokjemiske og morfologiske tilpasninger. Hvis planten flyttes fra et lysmiljø til et annet eller får endrete lysforhold kan blad bli kastet av og erstattet med mer tilpassete blad. Greining og høydevekst gir økt lysabsorpsjon.

Noen planter bruker en annen strategi. De unngår problemet med lite lys ved å vokse opp, blomstre og sette frø før trærne og buskene omkring har fått utviklet skikkelig bladverk (våraspektet). Eksempler er vårplantene (våraspektet) hvitveis (*Anemone nemorosa*), vårkål (*Ranunculus ficaria*), maigull (*Chrysosplenium alternifolium*), skjellrot (*Lathraea squamaria*) og maiblom (*Maianthemum bifolium*). I en bøkeskog (*Fagus sylvatica*) er det absolutt nødvendig for en skogbunnsplante f.eks. hvitveis (*Anemone nemorosa*) å kunne blomstre og sette frø før bøketrærne stenger for alt lys. Rakletrærne blomstrer på bar kvist om våren, fordi bladverket ville ha redusert mulighetene for vindpollinering.

Bladanatomien gir maksimal lysabsorpsjon. Klorofyll i kloroplastene gir en silingseffekt av lyset, og det er lyskanaler i intercellularrom og vakuoler. Tofrøbladete planter har sylinderformete palisadeceller med intercellularrom og solblad har lange palisadeceller, ofte i to lag. Svampmesofyll med uregelmessig formete celler med store intercellularrom gir lysspredning (skattering) og lysrefleksjon mellom celler og luft. Lysveien er ca. fire ganger bladtykkelsen. Skyggeplantene er konstruert for å fange opp mest mulig lys. Cellene i epidermis kan være linseformede slik at de samler og fokuserer lyset mot kloroplastene i mesofyllcellene. Skyggeblad er tynnere enn solblad. Skyggeblad er tynne og palisadevevet er lite utviklet. Bevegelsen av kloroplastene og blad er kontrollert blåttlysreseptorer. I skyggeblad plasseres kloroplastene i plantecellen parallelt med bladoverflaten slik at de får mest mulig lys. Flyttingen av kloroplastene skjer ved hjelp av aktinfilamenter i cytoskjelettet. Før bladet for mye lys flyttes kloroplastene til steder som er parallelle med lysinnstrålingen. I encellede alger kan kloroplastene flyttes via fytokrom, jfr. bevegelsen av den plateformete kloroplasten i *Mougeotia* som er styrt av rødt og mørkerødt lys.

## Fotosyntesen som funksjon av lysintensitet

Fotosyntesen er begrenset av det trinnet som går saktest (begrensende faktor, Blackman 1905). Fotosyntesen er redusert av tilgangen på lys og karbondioksid, temperatur, rubiskoaktivitet, regenerering av ribulose-1,5-bisfosfat og metabolisme av triosefosfater. I en **fotosyntetisk lysresponskurve** fremstilles fotosyntesen (CO<sub>2</sub>-fiksering eller oksygenutskillelse) som funksjon av økende lysfluks. Fotosyntesen er avhengig av lysintensiteten, det vil si hvor mange fotoner klorofyllene kan ta opp og hvordan lysenergien utnyttes. I mørke og i svakt lys dominerer respirasjonen. Hvis lysintensiteten øker stiger fotosyntesen inntil maksimum. En skyggeplante når metning av fotosyntesen ved en lavere lysintensitet enn en solplante. En tett bestand av planter gir en betydelig vegetasjonsskygge. Ved skrå belysning og med lite optimal

plassering av bladene skal det mye til at fotosyntesener mettet med lys for alle bladene på en plante. Skyggeplantene har en lavere maksimal fotosyntese og blir mettet ved lavere lysintensitet enn solplantene. **Mørkerespirasjonen og lyskompensasjonspunktet** for skyggeplanter er lavere enn for solplanter. Lyskompensasjonspunktet vil si den lysmengden som ikke gir noen netto gassutveksling, dvs. CO<sub>2</sub> produsert i fotosyntesen og er lik mengden CO<sub>2</sub> forbrukt i respirasjonen. Lyskompensasjonspunktet for solplanter er ca. 10-20 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, og for skyggeplanter 1 -5 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Den første delen av lysmetningskurven gir en tilnærmet lineær økning i fotosynteserate og er et mål på maksimalt kvantutbytte. Ved høyere fotonfluks reduseres fotosyntesen og når metning. Lysmetningskurven flater av med økende lysintensitet p.g.a. begrensninger i mengden CO<sub>2</sub> (Liebig- og Blackman kurve). Lysmetningen er ved ca. 500 -1000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, sammenlignet med maksimalt sollys en solrik dag som er i størrelsesorden 2000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Solblad og skyggeblad har omtrent samme kvantutbytte.

Plantene i vegetasjonsskyggen må klare seg med lyset som har sluppet igjennom bladverket. Dette er lys med liten andel blått og rødt, men med mye grønt og mørkerødt (>700 nm). Fotosystem II (PSII) lokalisert til granalamellene absorberer lys med kortere bølgelengder enn fotosystem I (PSI) i intergranalamellene. I skyggeblad er forholdet PSII/PSI ca. 3:1 og for solblad er PSII/PSI ca. 2:1. Blad i vegetasjonsskygge trenger mer PSII siden PSII lyset har blitt absorbert av vegetasjonen over. PSI er mer effektivt til å ta opp mørkerødt lys sammenlignet med PSII. Skyggeblad kompensere for mangelen på fotosystem II lys ved å ha flere granastabeler og tilsvarende mer fotosystem II enn solblad.

Blad på planter som får mye lys er ofte tykkere ved at palisadevevet foreligger i to lag og palisadecellene er lengre. Selv på samme plante kan det være forskjell i anatomi og fysiologi på de bladene som fått mest lys i forhold til de som står i skygge.

Skyggeblad har mer klorofyll per reaksjonssenter enn solblad og har et høyere forhold mellom klorofyll b/klorofyll a. Solblad har et høyere innhold av rubisko, og har større mengder xanthofyllsykluspigmenter enn skyggeblad.

På et tre kan det finnes solblad som står soleksponert og skyggeblad som dekkes av bladverket over. Allerede når bladknoppene lages om seinsommeren blir det registrert om bladet kommer til å få mye eller lite lys neste vekstsesong, og bladet konstrueres deretter. Blader og tilhørende greiner som får for lite lys kan felles. Solbladene har mer klorofyll per arealenheter, har tykkere kutikula og tettere med spalteåpninger enn skyggebladene. Solbladene har også større mengder av enzymet rubisko som binder karbondioksid fra lufta. Eksempler på solplanter er blodstorknebb (*Geranium sanguineum*), blåkoll (*Prunella vulgaris*), følblom (*Leontodon autumnalis*), åkervindel (*Convolvulus arvensis*), røsslyng (*Calluna vulgaris*) og furu (*Pinus sylvestris*). Solplantene kan tilpasses å vokse på steder med mindre lys, men obligate skyggeplanter klarer ikke å tilpasse seg mer lys. Voks, saltkjertler og hår på bladoverflaten reflekterer lys og kan bidra til redusert lysabsorpsjon i områder med mye sollys.

Alger har mulighet til å tilpasse seg endring i spektralfordeling og lysintensitet nedover i vanddypet ved å forandre pigmentsammensetning (**kromatisk adaptasjon**) i fotosynteseapparatet.

Mest lys blir absorbert øverst i bladet. Grønt lys kommer lengst inn i bladet, slik at grønt lys blir viktig i de dypere delene av bladet. Mesteparten av CO<sub>2</sub> kommer inn gjennom spalteåpningene på undersiden av bladet. Det er vist at mengden rubisko er høyest midt i bladet.

## Fotosyntesen som funksjon av CO<sub>2</sub>

**CO<sub>2</sub> metningskurve** er en figur som viser sammenhengen mellom fotosyntese og partialtrykket til CO<sub>2</sub> i intercellularrommene i bladet ( $c_i$ ). Ved CO<sub>2</sub> kompensasjonspunktet er det balanse mellom fotosyntese og respirasjon, inkludert fotorespirasjon. **CO<sub>2</sub> kompensasjonspunktet** hos C<sub>3</sub> planter er ca. 100 ppm CO<sub>2</sub> (10Pa), og hos C<sub>4</sub>-planter er CO<sub>2</sub> kompensasjonspunktet ca 5 ppm CO<sub>2</sub>, og forskjellen skyldes forskjellig fotorespirasjon hos C<sub>3</sub>- og C<sub>4</sub> planter. Ved lav til middels konsentrasjon av CO<sub>2</sub> er fotosyntesen begrenset av karboksyleringskapasiteten til rubisko. Ved høy konsentrasjon av CO<sub>2</sub> er fotosyntesen begrenset av kapasiteten Calvinsyklus har til å regenerere CO<sub>2</sub>-akseptoren ribulose-1,5-bisfosfat som er avhengig av elektrontransporten. Ved økende konsentrasjon av CO<sub>2</sub> i intercellularrommene aktiveres fotosyntesen over et bredt konsentrasjonsintervall. Når konsentrasjonen av CO<sub>2</sub> øker blir det økt karboksylaseaktivitet i rubisko sammenlignet med oksygenaseaktivitet. Ved høy konsentrasjon av CO<sub>2</sub> er det nok CO<sub>2</sub> ved karboksyleringssettet, og fotosyntesen er begrenset av elektrontransport og hastigheten på biokjemiske reaksjoner. Ved ambient konsentrasjon av CO<sub>2</sub> (ca. 380 ppm, 30 Pa CO<sub>2</sub>) er fotosyntesen begrenset av rubisko hos C<sub>3</sub> planter. C<sub>3</sub>-planter er mer evolusjonært opprinnelige enn C<sub>4</sub>-plantene. C<sub>4</sub>-plantene utviklet seg for 10-15 millioner år siden hvor det var varmt på deler av jorda, men hvor store mengder CO<sub>2</sub> var bundet i is fra istider. Konsentrasjonen av CO<sub>2</sub> ved karboksyleringssettet i C<sub>4</sub>-planter er mettet med CO<sub>2</sub>, og C<sub>4</sub>-planter trenger mindre rubisko enn C<sub>3</sub>-planter. Generelt er C<sub>4</sub>-plantene tilpasset lav konsentrasjon av CO<sub>2</sub>, høy lysintensitet og lite nitrogen i jorda.

CO<sub>2</sub> diffunderer inn i bladene gjennom spalteåpningene påvirket av konduktansen i væskefase (mesofyllkonduktanse), intercellularrom, spalteåpninger (stomatakonduktanse), og grenselag (grenselagkonduktanse). Kan også presenteres som den inverse resistanse i stedet for konduktanse. Grenselagsresistansen minsker med bladstørrelse og vindhastighet. Mindre blad har mindre grenselagsresistanse.

## Lys og registrering i plantene

Lys gir virkning på planter via:

- 1) Lyskvantitet - fotofluksen/lysintensiteten
- 2) Lyskvalitet - spektralfordeling/fotonforhold
- 3) Retningen som lyset kommer fra - fotongradient
- 4) Varighet av lyset - tid i lys eller mørke. Lysglimt på skogbunnen.
- 5) Polarisasjon av lyset - organisering av fotoreseptorer i membranen.

Plantene registrerer lys ved hjelp av pigmentsystemer:

- 1) Ringformete tetrapyroller (klorofyll med chelatert magnesium og cytokrom med

chelatert jern. Feofytin, protoklorofyllid).

2) Lineære tetrapyroller (fotokrom, fykoerythrin, fykocyanin, allofykocyanin).

3) C40-isoprenoider (karotenoider (karotener og xanthofyller).

4) Flaviner (riboflavin, pteriner, UV-A receptor, UV-B-receptor).

I tillegg inneholder plantene en lange rekke fargete forbindelser (flavonoider, betacyaniner, anthrakinoner m.fl.).

## Klatring, greining og bladplassering - kamp om lys og plass

"Av måneskinn gror det ingenting". Torborg Nedreaas.

I kampen for plass og tilgang til mest mulig lys har flere planter tatt i bruk romlig spesialisering som kleng- og klatreteknikk eller "vokse seg høy" strategi.

Klengemaure (*Galium aparine*) og humle (*Humulus lupulus*) klenger seg fast med hjelp av stive spisse krokhår i epidermis (ytterhuden). Slyngsøtvier (*Solanum dulcamara*) og grasstjerneblom (*Stellaria graminea*) klatrer også. Roser (*Rosa*), bringebær (*Rubus idaeus*) og bjørnebær (*Rubus nemoralis*) har grentorer som, ved siden av beskyttelse mot beiting, kan brukes til klatring. Når skuddet til en slyngplante vokser rett opp vil det ganske snart være behov for å finne en velegnet støtte.

Skuddet på planten roterer i søkebevegelser (cirkumnutasjon) og leter etter et objekt å rotere rundt. Om skuddet roterer med eller mot sola er genetisk bestemt. Hos humle (*Humulus lupulus*) og vindelslirekne (*Fallopia convolvulus*) roterer skuddspissen med sola (med klokka). Åkervindel (*Convolvulus arvensis*) slynger seg mot sola (mot klokka). Planter i erteblomstfamilien og gresskarfamilien f.eks. gallebær (*Bryonia*) har slyngtråder (klatretråder) som er omdannede blad. Villvin (*Parthenocissus*) klatrer med en festefot som er en omdannet stengel. Blomkarse (*Tropaeolum majus*) bruker bladstilken til klatring. Blader i en tett rosett kan skygge vekk planter i nærheten.

Misteltein (*Viscum album*) er en **epifytt** som har klatret så høyt at den ikke lenger er festet til jorda. I tropisk regnskog er det mange planter som lever som epifytter bl.a. orkidéer. En høy stamme og stor krone på et tre vil gi et konkurransefortrinn i kampen om lys og plass.

Innen økologi lærer man at for arter som konkurrerer om de samme begrensede ressurser så vil en eller noen få arter konkurrere ut de andre. Når man ser på artsrikdommen i en tropisk regnskog så synes ikke dette å stemme. Det må skyldes at det egentlig er liten konkurranse mellom underskogsartene som får lite lys. I en skogbunn vil det alltid være mulighet for solglimt når vinden rusker i og flytter på trekronene, eller når sola flytter seg. Planter som vokser i lite lys må også beskytte investering i bladverk mot insekter, sopp og dyr som ellers ville kunna ha spist opp bladene. I underskogen i tropisk regnskog kan lysglimt som slipper ned til skogbunnen gjennom gap i vegetasjonen representere opptil 50% av tilgjengelig lys. Plantene som lever i slike miljø må ha meget rask fotosynteserespons for å kunne utnytte fotonene i lysglimtene.

Løvetann (*Taraxacum*) har tykke blad som vokser tett inntil hverandre og slipper igjennom lite lys. Bladrosetten skygger for andre blad og hindrer vekst under planten.

Blad absorberer mest lys hvis de står normalt på lysretningen. Bladene er plassert

slik at de får optimal fotosynteserate i forhold til vanntap via transpirasjon. Bladene kan følge sola om dagen fra øst til vest. Solindusert bladbevegelse kalles **heliotropisme**. Heliotropisme skjer bare på klare dager, ikke i overskyet vær og er en blåttlysrespons. Bladbevegelsen skyldes endringer i turgortrykk i bladhengsleceller (pulvinus med motorceller). Det er en fotofølsom del nær basis av enkeltblad eller nær ledningsstrenger. Noen planter følger sollyset (diaheliotropisme) for å få maksimalt lys og oppvarming like etter soloppgang. Hvis bladene mottar for mye lys kan bladene vendes vekk fra sola og plasseres parallelt med solinnstrålingen for å unngå sollyset (paraheliotropisme) e.g. bønner eller "skyggeløs skog" i Australia. Diaheliotropisme vil si at bladene stilles normalt (vinkelrett) på solinnstrålingen for å få mest mulig lys. Bladvinkel og bladenes form kan bli påvirket av det ytre miljø.

## Fotosyntese og temperatur

Temperatur påvirker alle biokjemiske reaksjoner og membraner. Optimal temperatur for planter er genetisk adaptivt bestemt, men tilpasningen har en omgivelseskomponent via akklimatisering. Fotosyntesen varierer fra kuldegrader i arktiske strøk til 60°C i en ørken. Løseligheten av CO<sub>2</sub> i vann minsker raskere enn løseligheten av O<sub>2</sub> når temperaturen stiger. Dette betyr at fotorespirasjonen øker med økende temperatur, noe som gir redusert fotosyntese. Ved lav temperatur er fotosyntesen begrenset av tilgangen på uorganisk fosfat i kloroplastene, fordi det brukes lite triosefosfat som er koblet til triosefosfat-fosfat translokator. Forholdet mellom syntese av sukrose/stivelse synker med økende temperatur, det vil si at det lages forholdsvis mer sukrose enn stivelse ved lav temperatur. Det er en økende karboksylering ved økende temperatur opp til et optimum. Rubisko-aktiviteten minsker med økende temperatur. Det skjer en økning i respirasjon ved økende temperatur, men dette er ikke årsaken til den bratte nedgangen i fotosyntese ved høy temperatur. Årsaken til nedgangen er at de membranbundete elektrontransportørene blir ustabile ved høy temperatur.

## Kjøttspisende planter

Insektspisende plantene vokser vanligvis på fuktige lokaliteter med lavt nitrogeninnhold. Mer riktig er å kalle dem kjøttetende fordi de også spiser små edderkoppdyr og nematoder. Det er kjent ca. 400 arter som bruker strategiene tiltrekke, fange, drepe, oppløse og absorbere. Fangning av insekter og små dyr gir et tilskudd av nitrogen og andre mineralstoffer. Charles Darwin var en av de første som undersøkte insektspisende planter beskrevet i boka *Insectivorous plants*. Tanken på kjøttspisende (karnivore) planter fascinerer mange mennesker. I *Trifidenes dager* (*The Day of the Trifids*) skrevet av John Wyndham, også sendt som radioteater i NRK, er et eksempel. Alle insektspisende planter er grønne og inneholder klorofyll. Behovet for karbohydrater vil derfor bli dekket via fotosyntese. Ofte er rotsystemet lite utviklet. Soldogg vokser på næringsfattige myrer og bruker en passiv "fluepapirmetode" som fangstteknikk. Norske arter av soldogg er rundsoldogg

(*Drosera rotundifolia*), smalsoldogg (*Drosera anglica*) og dikesoldogg (*Drosera intermedia*). Bladene hos soldogg har rødfargede lange tentakler med honningglinsende slimdråper ytterst. Det seige slimet består av karbohydrater som skilles ut av kjertelepitelceller. Rødfargen skyldes anthocyaniner. Når et insekt er fanget i slimet og sparker for å komme løs stimuleres følsomme celler i nærliggende kjertelhår slik at også disse deltar i fangstprosessen. Insektet gir mekaniske og kjemiske stimuli til planten som responderer med et **aksjonspotensial** som beveger seg oppover og nedover i planten. Dette gir relativt raske nastiske reaksjoner og mer langsomme tropismer i tentakler og blad. Etterhvert vil hele bladet bøye seg sammen omkring insektet. Når et insekt er fanget produserer cellene i kjertelhårene enzymer som bryter ned og fordøyer nukleinsyrer og proteiner i insektet. Bakterier kan også delta i nedbrytningen. Kitin brytes ikke ned slik at det tomme skjelettet blir liggende igjen. En lignende teknikk bruker vanlig tettegras (*Pinguicula vulgaris*) og fjelltettegras (*Pinguicula alpina*). Hos tettegras er bladene dekket av kjertler med stilk som skiller ut slim. Når et insekt er fanget stimuleres andre kjertelhår til å produserer enzymer som bryter ned insektet. Blærerot er en vannplante som mangler røtter, og har en rekke aktive fangstblærer som virker som **sugefeller**. Fangstblærene er omdannede blad. Arter av blærerot som vokser i Norge er bl.a. storblærerot (*Utricularia vulgaris*), gytjeblårerot (*Utricularia intermedia*) og småblærerot (*Utricularia minor*). Blæren er lukket av en klaff. Ioner av kalium og klorid pumpes aktivt ut av blæren, og vann følger etter. Det er negativt hydrostatisk trykk (ca. -17kPa) inne i blæren som gjør veggene i blæren buler innover. Blæren har minket sitt opprinnelig volum med ca. 40% når den er fangstklar. Spesielle hår leder insektet til inngangen av fellen. Hvis små dyr og insekter kommer i kontakt med hår utenfor inngangen spretter klaffen opp og de blir i løpet av millisekunder sugd inn i blæren sammen med vann. Klaffen faller tilbake og lukker blæren. Deretter brytes insektet ned av bakterier og enzymer. Løfter man opp en blærerotplante fra vannet vil det høres en rekke "klikk" fra blærene på grunn av de endrede trykkforholdene. Tjæreblomst (*Lychnis viscaria*) har klister på stengelen som kan fange insekter, men har ikke til opgave å fortære dem. I tropiske strøk finnes flere arter. Venus fluefanger (*Dionaea muscipula*) i soldoggfamilien har et blad som ender i to halvdeler med spisse pigger langs kanten, og som virker som **fangstfelle**. Kommer insekter i kontakt med følsomme hår klapper de to bladhalvdelene raskt omkring insektet. *Nepenthes* i kannebærerfamilien (Nepenthaceae) klatrer ved hjelp av slyngtråder laget fra bladets midtnerve. Slyngtråden danner i enden en krukke (kanne) med lokk. Lokket skal hindre regnvann å komme ned i kannen. Kannen er rødbrun og har honningkjertler langs kanten av kannen. Insekter som blir lokket til av farge og lukt ramler ned i kannen og kommer ikke opp igjen. De blir løst opp i en væske i bunnen av kannen som inneholder enzymer og bakterier. I *Nepenthes* er det funnet peptidtransportører som frakter peptider fra nedbrytning av protein i insektet. I familien Sarraceniaceae med slektene *Sarracenia*, *Darlingtonia* og *Heliamphora* er bladene utformet som kanner i rosett. Kannen er glatt på innsiden med nedovervendte hår som hindrer insektet å komme opp. Insektene løses opp i en væske laget fra kjertelhår i bunnen av kannen. *Cephalothus* (Cephalotaceae) har kanneblad på bakken som fanger maur.



## Sykdom og symbiose - en balansegang

Plantene lever i nærkontakt med andre organismer i jord og luft: nematoder, protozoer, sopp, bakterier, mykoplasmaalignende organismer, virus, viroider, insekter og andre invertebrater, herbivore dyr, samt andre planter. Sopp gir stor skade på landbruksvekster og pryddplanter. Patogener som gir sykdom kalles **virulente**.

**Patogenese** består av infeksjonsprosess, kolonisering og patogenreproduksjon. Et effektivt patogen har høy og rask reproduksjonsrate i vekstsesongen, og spres raskt med vind, vann eller insekter. Effektive patogener har stor genetisk diversitet, og er haploide under reproduksjonsfasen som gjør at mutasjoner raskt kan gi en selektiv fordel. Seksuell reproduksjon på slutten av vekstsesongen gir sporer (teliosporer eller hvilesporer) som gir nye rekombinasjoner. Hvilestadiet kan ha levetid i flere år.

Monokulturer med landbruksvekster med lavt innhold av fytoaleksiner og få resistensgener er spesielt utsatt for patogener. Noen patogener skader plantene ved å lage et giftstoff (toksin) som dreper planteceller eller hele planten. Toksinene kan være vertsspesifikke eller ikke-selektive. Patogenet lever deretter på det døde vevet til verten. Symbiose er samvirke mellom to eller flere arter. Mutualisme er en form for symbiose som er til fordel for alle partene. Parasittisme gir fordel for den ene parten og ulempe for den andre. Parasitter fører nødvendigvis ikke til sykdom.

Plantene har et konstitutivt forsvar som er tilstede hele tiden og en induserbart forsvar som kan induseres bl.a. av elicitorer. Jasmonat kan bli aktivert via et aminosyrekonjugat, JAR-protein.

## Sopp

Omtrent alle planter lever i mutualisme med sopp i form av mykorrhiza, men samtidig kan sopp gi store skader på plantene. Plantene har en mekanisme som skiller mellom mutualistiske og patogene sopp. Soppene har hyfer, som er langstrakte celler som vokser, forgreiner seg og danner **mycel**. Ved visse tidspunkter dannes fruktlegemer, og sporer er små en- eller flercellede spredningsenheter. Kutikula og epidermis er en barriere mot inntrengere i planten. Sopp kan komme inn i blad via en penetreringsstruktur, kalt **appresorium**. Appresoriet kommer fra en soppspore som fester seg i slim på bladoverflaten og løser opp epidermis. En annen vei inn er via spalteåpninger. **Nekrotrofe sopp** lager og skiller ut enzymer som bryter ned celleveggene i planter og kan i tillegg inneholde toksiner som dreper planten. **Biotrofe sopp** invaderer plantecellen med spesielle strukturer, kalt **haustorier**, som gjør at soppen kommer i kontakt med levende celler. Haustoriene er finger- eller klubbformede ender av hyfene som inneholder enzymer som løser opp celleveggen. Nekrotrofe sopp dreper plantecellene, biotrofe sopp holder liv i plantecellene. Hemibiotrofe sopp holder først liv i plantecellene, men dreper dem seinere. Mange sopp kan ikke leve uten en plantevert og er obligate parasitter, f.eks. meldugg, rustsopp og sotsopp. Nekrotrofe patogener får næringsstoffene fra døde celler f.eks. *Monilinia*. Soppen *Ceratocystis ulmi* som gir almesyke og utrydder alm (*Ulmus glabra*) over store områder, lager et hydrofobin, kalt ceratoulmin, som gjør at mycelet sprer seg lettere og ledningsvevet blir tettet igjen. Noen sopp produserer stoffer som



gjør at blad omdannes til **pseudoblomster**, blomsterlignende strukturer, en form for blomstermimikry som gjør at insekter deltar i spredningen av soppen.

Ved **bladsykdom** ser bladene i toppen av planten eller treet tilsynelatende å være i orden, mens det finnes større eller mindre sektorer med misfargete blad. Ved **visnesyke** visner toppen av planten eller treet. Det kan skje tilbakedøing av greiner eller sideskudd, og det kan være små blad på noen skudd. Ved stammeråte på trær er det i starten en intakt krone, men barken løsner og hakkespetter finner insekter under barken. **Kjucker** vokser direkte ut fra stemme eller greiner, men kan også vokse flatt på et substrat. Overflaten kan være håret eller dekket med hardt skall. Fruktlemelet (trama) har på undersiden et sporedannende organ (hymenium) med porer med basidier som lager basidiesporer. F.eks. kan knuskkjuka (*Fomes fomentarius*) gi stammeråte. Ved rotråte dør toppen av krona, det blir klorotiske blad, men med tilsynelatende ingen barkskader. Soppen kan smitte via røttene fra ett tre til et annet. Rotkjuka (*Heterobasidion annosum*) er en slik stor skadegjører på bartrær. Honningsopp (*Armillaria*) sprer seg også på denne måten og dreper kambiet. Grantrær (*Picea abies*) som er angrepet av rødbrandkjuka (*Fomitopsis pinicola*) knekker ca. 1 meter over bakken. **Skuddråte** angriper skuddet og **barkråte** angriper barken..

Avkutting av store greiner kan gi infeksjon, brunråte (nedbrytning av cellulose, lignin brytes ikke ned) og hvitråte (bryter ned lignin, cellulose brytes ikke ned).

Basidiomyceten Kreftkjuka (*Inonotus*) angriper løvtrær. Svovelkjuka (*Laetiporus sulphureus*) gir brunråte.

Ascomycetene stubbehorn (*Xylaria polymorpha*) og kullskorpe (*Ustulina deusta*) har perithecier mot overflaten og gir hvitråte. Andre sopp gir hvitråte er *Trametes*, *Fomes*, *Polyporus*, *Phellinus* og *Heterobasidion*. Brunråte hos *Fomitopsis*, *Fistulina*, *Gloephyllum*, *Piptoporus*, *Paxillus aronentosus*, *Dacrymyces*, *Serpula*, *Laetiporus*. Mørkefarget kjerneved hos furu, lerk, eik, alm og kirsebær kan inneholde sekundærmetylitter som gir beskyttelse mot nedbrytning. Lys kjerneved i gran. Ingen forskjell hos bjerk. Mycel kan bre seg i sprekker i veden.

*Monilinia* gir hvite harde mummier på blåbær og som overvintrer. Neste vår frigis det ascosporer som gir infeksjon av unge blader. Fargerike mønster på bladene imiterer blomster og sammen med konidier som skiller ut sukker spres sporene.

Blåbærstjerne (*Valdensinia heterodoxa*) er en ascomycetsopp med stjerneformete sporer som gir flekker på blåbærblad, som dekker deler eller hele bladet.

*Claviceps purpurea* på rug (*Secale cereale*) og blåtopp (*Molinia caerulea*) inneholder ergot alkaloider og St. Antonius hellige ild (*ignis sacer*).

Amerikansk kastanje (*Castanea americana*) ble delvis utryddet av ascomycetsoppen *Cryptonectria parasitica*.

Mange sopp kan kastre blomsten og gi økt strekningsvekst i planten.

## Bakterier

Fytopatogene bakterier som gir infeksjoner i planter finnes innen slektene *Spiroplasma*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, og *Pseudomonas*. *Pseudomonas syringae* er en saprofytt som lever på dødt eller døende organisk stoff på overflaten av blader. Ved de fleste betingelser påvirkes ikke veksten av planten, men under frysepunkt for vann vil spesielle bakterieproteiner virke som kjerne for iskrystaller. Iskrystallene ødelegger plantevevet og gir bakteriene adgang til organisk materiale. Vertsspesifikke toksiner kan være sykliske peptider som ødelegger plasmamembranen eller mitokondriemembraner. *Erwinia amylovora* lager et giftig protein, kalt harpin, som er et glycin-rikt protein som dreper plantecellene ved å ødelegge ionefluksen over plasmamembranen.

## Virus

Virus som spres med insekter kan bli replikert i insektet. Virus gir redusert vekst, fargemosaikk og deformerte blad. Virus sprer seg systemtisk i planten via plasmodesmata og går aldri over plasmamembranen. Viruspartiklene samles i cytoplasma eller kjernen. De fleste plantevirus er enkelttrådet RNA virus. Positiv tråd RNA virus translateres direkte i cytoplasma. Enekeltrådet DNA virus (ssDNA) og enkelttrådet negativt RNA virus (ss(-)RNA) går inn i kjernen og bruker replikasjonssystemet der. Blomkålmosaikkvirus er eksempel på et dobbeltrådet DNA virus. Noen virus trenger et ekstra satelittvirus for å kunne gi virulens. Mange plantevirus sprer seg med insektsvektorer. Viroider er plantepatogener som bare inneholder nakent RNA. Antraknose kan skyldes melduggsopp, virus eller *Fusarium*-tørke.

## Herbivore insekter

Det er tre hovedtyper herbivore insekter.

1) Tyggende insekter (biller, larver fra møll og sommerfugl, flyvegresshopper) som gjør stor skade på bladverket.

2) Sugende floemspisere (bladlus og kvitfly) som suger sukker fra floemet og gir lite vevsskade. Stikkende sugende munndeler penetrerer og drenerer silrør i floemet og gir redusert vekst av planten. Overskudd av sukker fra bladlus gir "honningdugg" som er vekstsubstans for svartesopp.

3) Cileinnholdspisere (trips)

Skaden er avhengig av aldersstadiet til insekt og plante. Noen insekter spiser frø og røtter. Insektavledete elicitorer er fettsyre-aminosyrekonjugat. Linolensyre fra planten og glutamin fra insektet kan omdannes av enzymer i tarmen til volicitin som virker som en elicitor og induserer syntese av sekundærmetabolitter i planten.

"Grønn lukt" (C6-aldehyd, alkoholer, estere) fra ødelagt plantemateriale tiltrekker seg insekter som predaterer på insektlarver, eller kan virke direkte som en repellent.

Ospeminerømll har angrepet osp (*Populus tremula*) gjennom mange år i sør Norge. Heggspinnerømll angriper hegg. For noen år siden furubarveps, og askebladveps (*Tomostethus nigrinus*). Bjerk over store deler angrepet av bjerkemåler.

Løvetann (*Taraxacum vulgare*) skiller ut en hvit melkesaft hvis den skades. Dette sammen med bitterstoffer beskytter planten mot beitende dyr og insekter.

Bladskjærermaur bruker blad til å dyrke sopp, hvor soppen er mat for larver. Oksehornakase (*Acacia*) hvor maur (*Pseudomyrmex*) lever i stipuler utformet som hule torner (domatier, gr. *domos* - hus, struktur). Maurene fores med proteinlegemer (Belts legemer etter Thomas Belt) på spissen av småbladene, i tillegg til naktar ved basis av bladene. Til gjengjeld beskytter maurene treet og fjerner også andre planter. Acacier uten maur har høyt innhold av bitterstoffer.

På midten av 1800-tallet ble det innført pærekaktus (*Optunia*) til Australia for å bli brukt som levende gjerde for å holde kveg innestengt. Den tørkeresistente kaktusen spredde seg imidlertid uhemmet over store områder. For å bekjempe kaktusen ble kaktusmøllen (*Cactoblastis cactorum*) fra Argentina innført, en art som legger egg i kaktusen. Den biologiske bekjempningskontrollen var tilsynelatende vellykket, idet man var redd for hva ville skje når kaktusmøllen ikke hadde flere kaktus å legge egg i, ville den da velge en annen art? Nå lever både kaktusmøll og kaktus, men med små populasjoner.

Larven til europeisk maisborer angriper blad på unge maisplanter, når insektet blir større borer det i stilken.

Endod (*Phytolacca dodecandra*) inneholder et stoff som dreper snegler og kan brukes til å bekjempe bilharzia.

## Plantepatogene nematoder

I jorda finnes det et stort antall nematoder (rundormer) som påvirker planter ved å spise på røttene. Symptomene viser seg som rotknuter, sterk forgreining av røttene og ødelagte rotspisser. Noen av rotnematodene er ektoparasitter som lever på utsiden av røttene. Andre er fastsittende endoparasitter og gir store cellulære forandringer i røttene. Begger typer nematoder kan spre plantevirus. Sekundært kan skader på planten gi infeksjon av sopp og bakterier. De fleste kjente endoparasittene tilhører familien Heteroderidae. De deles i to hovedtyper:

1) **Rotcystenematoder** (slektene *Heterodera* og *Globodera*) som løser opp celler i rotbarken og lager en fødestruktur bestående av flere sammensmeltede celler med felles protoplasma (syncytium).

2) **Rotknutenematoder** (slekten *Meloidogyne*) som induserer celledeling i rotbarken som gir kjempeceller og rotknuter.

Egg klekkes i nærheten av røttene og den unge nematoden (juvenilt stadium) trenger inn i røttene fram til ledningsvevet. Det lages et syncytium eller kjempeceller i nær kontakt med floemet slik at rotnematoden kan stikke en snabel inn i silrørene. Planten

kan respondere med å lage kallose rundt inntrengningsstedet. Hele infeksjonsprosessen er styrt av kjemiske kommunikasjon mellom plante og nematode.

## Planteparasitter

Noen planter mangler klorofyll og er helparasitter på andre planter. Disse er brunrøde eller gul- eller rødhvite av farge f.eks. snyltetråd (*Cuscuta*), skjellrot (*Lathraea squamaria*), korallrot (*Corallorhiza trifida*), fuglereir (*Neottia nidus-avis*), vaniljerot (*Monotropa*), snylterot (*Orobanche*) og huldeblom (*Epipogium aphyllum*). Vårstengelen hos åkersnelle (*Equisetum arvense*) er uten klorofyll, men sommerstengelen er grønn. Snyltetråd (*Cuscuta*) mangler blad, og har ikke røtter, men har små skjellignende organer og er helt avhengig av vertsplanten.

**Allelopati** vil si at giftige stoffer utskilt fra planter påvirker andre planter i nærheten f.eks. kaffeinsyre, ferulinsyre, samt juglon i *Juglans nigra*.

## Plantenes forsvar mot sykdomsframkallende organismer

En konstitutiv forsvarsrespons er alltid tilstede i planten. En induert forsvarsrespons aktiveres ved skade av planten, og via elicitorer induseres signalveier for forsvarssystemene i planten. En patogen organisme kan omgå planteforsvaret ved evolusjonær forandring.

Selv om det er mange potensielle plantepatogener (sopp, bakterier, virus, viroider, nematoder, protozoer, mykoplasma) er mange planter resistente. Resistensen varierer fra mekaniske eller kjemiske barrierer som gir ikke-spesifikk beskyttelse mot flere typer organismer, til mer sofistikerte spesifikke forsvarsresponses. Forsvaret aktiveres i en **alarmfase** via **elicitorer (alarmoner)**. Elicitorer eller små molekyler, f.eks. oligosakkarider, som kan være eksogene når de lages av den patogene organismen f.eks. kitin (polymer av  $\beta$ -1,4-N-acetylglukosamin), eller endogene når de lages av planten som respons på inntrengeren f.eks. oligosakkarider fra celleveggen. Ved binding av elicitor til en reseptor starter en signalkaskade med åpning av kalsiumkanaler, og produksjon av NO, protein kinaser og jasmonat. Flyktig metyljasmonat kan gi signal fra en plante til en annen.

Planteresponsen kan være en **hypersensitivitetsreaksjon** hvor cellene rundt angrepsstedet dør ved kontrollert celledød (apoptose), slik at infeksjonsstedet isoleres. Hypersensitivitetsreaksjon eller nekrose gir mindre sykdomssymptomer i andre deler av planten. Samtidig syntetiseres forsvarsbarrierer. Celleveggene til de levende plantecellene omkring det døde området innsettes med celleveggforsterkende stoffer som **lignin**, **kallose**, **fenoler** og **hydroksyprolin rike glykoproteiner**. Plantenes forsvarsapparat er omfangsrikt og beskyttelsen skjer i tillegg ved:

1) **Fytoaleksiner** som er ikke-spesifikke lavmolekylære antimikrobielle stoffer (toksiner) som lages av planten når de angripes av patogener. Phaseollin og medicarpin er fytoaleksiner fra erteblomstfamilien. Oryzalexin og momilakton er fytoaleksiner fra ris (*Oryza sativa*).

2) Syntese av **reaktive oksygenforbindelser** som brukes til å drepe inntrengere. Flere enzymer er involvert bl.a. **NADPH oksidase**, lipoksygenase, oksalat oksidase, glyoksylat oksidase, og fenol oksidase.

3) Syntese av **patogeneserelaterte proteiner** bl.a. kitinase og  $\beta$ -1,3-glukanase. **Proteaseinhibitorer** er lavmolekylære proteiner som hemmer proteasene hos inntrengeren i planten.

## Resistens - hvordan unngå å bli syk ?

De fleste ville planter og noen varieteter av kulturplantene er resistente mot sykdom. De har en generell bred **multigen resistens**. Noen varieteter av planter er imidlertid bare resistente mot enkelte raser av et patogen. Denne siste typen resistens kontrolleres av bare noen få gener. Resistensen kan være **lokalervervet resistens** som induseres rundt infeksjonsstedet, eller **systemisk ervervet resistens** som sprer seg systemisk rundt i planten via signalstoffer f.eks. salicylsyre og jasmonat. Oktadekanoidveien til jasmonat i planter ligner eikosanoidveien i dyr, og i samvirke mellom kloroplaster og peroksysomer med  $\beta$ -oksidasjonsenzymer lages jasmonat som kan påvirke transkripsjon av gener.

Plantene inneholder mange **resistensgener**. Resistensgenene koder for flere proteiner bl.a. protein kinaser som setter igang en kaskade av forsvarsresponser. Alleler for resistensgener er vanligvis dominante, men kan også være recessive. Resistens nedarves. Flor studerte lin og linrustsopp på 1940-tallet og formulerte en gen for gen hypotese. **Gen for gen hypotesen** sier at planten er resistent hvis det for ethvert dominant resistensgen *R* som gir planten resistens mot sykdom finnes det i den avirulente patogene organismen et tilsvarende komplementært avirulensgen *Avr* for **avirulens**. *R*-proteiner er strukturelt like og gjenkjenner genprodukter fra *Avr* som koder for genprodukter som aktiviserer forsvaret i planten. En patogen organisme framkaller bare sykdom hvis avirulensgenet ikke har et tilsvarende resistensgen i planten, eller hvis planten har et resistensgen hvor den patogene organismen mangler et tilsvarende avirulensgen. De fleste *R*-gener er medlem av store multigenfamilier, og det er stor allelvariasjon for noen *R*-loci (polymorfi). *R*-proteiner har leucinrike repetisjoner, og noen *R*-proteiner binder ATP eller GTP og inneholder domene for protein kinase. Resistens som skyldes gener i mitokondrier eller kloroplaster kalles **cytoplasmatisk resistens**. Hvis man har krysset fram en resistent kulturplante, vil over tid nye stammer med patogener angripe den opprinnelige resistente planten. Det pågår derved et kontinuerlig rustningskappløp mellom vert og patogen.

## Programmert kontrollert celledød

Plantene har evne til starte og styre prosesser som leder fram til programmert kontrollert celledød (apoptose). Programmert kontrollert celledød skiller seg fra **nekrose** ved ikke å skade nærliggende celler. I livssyklus er det mange cellyper som gjennomgår en kontrollert celledød:

- 1) Hull og innbuktninger på blader f.eks. *Monstera*.
- 2) Fjerning av cytoplasma fra trakeider og vedrørselementer i xylem (vedvev) slik at cellene kan utføre langdistanse vanntransport.
- 3) Fjerning av ikke-funksjonelle megasporer og mikrosporer. I megagametogenesen hos angiospermene dør 3 av de 4 megasporene. I mikrosporogenesen i utviklingen av pollen dør cellene i tapetlaget som omgir mikrosporene.
- 4) Fjerning av suspensorceller i embryo. Den første delingen av zygoten gir en celle som gir opphav til embryo og den andre en suspensor.
- 5) Død av endospermceller i frø etter at de er fylt med opplagsnæring.
- 6) Aerenkymdannelse i sumpplanter og vannplanter.
- 7) Død av kronblad, og noen ganger også begerblad etter befruktning av blomsten. Etter blomstring kan både hannblomster og hunnblomster dø.
- 8) Ved hypersensitivitetsreaksjoner etter angrep av patogene mikroorganismer.
- 9) Torner og andre utvekster fra epidermis kan dø etter at de er ferdig utviklet. Oljekjertler i skallet på citrusfrukter utvikles etter at celler under epidermis dør og fylles med eteriske oljer. Slim-, lateks- og harpikskanaler kan lages ved celledød.

I cellekulturer som eldes er det funnet nedbrytning av celler ved autofagi. "Forbli-grønn" mutanter eldes ikke så raskt som dem hvor klorofyll brytes ned. På cellenivå skjer det flere endringer under den energikrevende aldringsprosessen. Kloroplaster kan omdannes til kromoplaster eller **gerontoplaster**. Peroxisomer blir omdannet til glyoksysomer når blad eldes. Glyoksysomer finnes derfor i stort antall ved spiring av fettfrø, i unge frøplanter og i gamle blad. Glyoksysomene deltar om omdannelsen av fett til sukker som kan fraktes vekk til lagring. Det skjer en nedbrytning av klorofyll, protein og nukleinsyrer. Når fotosyntesen reduseres skjer det også en endring i redoksnivået i cellene. Etterhvert som antioksidantforsvaret reduseres vil reaktive oksygenforbindelser (ROS) kunne gi permanente skader. ROS kan spille en viktig rolle som startmekanisme for celledød. Det er flere **aldringsrelaterte gener** som skrur på under modnings- og dødsfasen. Disse koder for proteolytiske enzymer som proteaser, klorofyllase, ribonuklease, DNase, cellulase, pektinase, fosfatase og enzymer i etylensyntesen. Flere av de hydrolytiske enzymene finnes i vakuolen. Etylen er et viktig hormon ved aldringsrelaterte prosesser, mens cytokinin virker som en antagonist til etylen og forsinker aldring. Sopp kan lage cytokininer som gjør at det blir grønne øyer i et ellers gult aldrende blad. Noen typer frukt har et respiratorisk klimakterium under modningsprosessen som følges av maksimal utskillelse av etylen. Enzymer som lager karotenoider kan nysyntetiseres under modning av frukt f.eks. tomat, banan og appelsin. Anthocyaniner kan lages i økt mengde under aldringsprosessen, f.eks. rødfargete høstblad eller modning av jordbær. Organisk nitrogen fraktes vekk fra blad som eldes i form av aminosyrer. Fosfat er bundet til nukleinsyrer i esterbinding og fosfatase kan frigi uorganisk fosfat som fraktes vekk. Det er ukjent om hele planten er styrt av et genetisk program for aldring og død.

## Høstfarger og nedbrytning av klorofyll

*Alt kjøtt er gress og all dets herlighet som markens blomst. Gresset blir tørt, blomsten*



visner...Profeten Esaias 40 6-7

Bladavkastning og død av blader er koblet til farger. Brun farge skyldes garvestoffer. Blomstringen er dramatisk og flott, men følges raskt av død. Blomsten er vanligvis den mest kortlevete delen av planten.

Nedbrytning av klorofyll er en forutsetning for å bryte ned proteiner. Klorofyll må fjernes pga toksiske fotodynamiske effekter. Porfyrin overføres til vakuolen hvor det brytes ned til tetrapyroller. Nitrogen i klorofyll 3-5 % av alt totalt

Vi forbinder nedbrytning av klorofyll med aldring, men også vev uten klorofyll eldes.

**Proteaser** er enzymer som bryter ned proteiner i den normale metabolismen og proteinomsetningen. Noen proteaser har en viktig rolle ved stress og aldringsrelatert nedbygging av protein. Kloroplastene inneholder flere forskjellige proteaser bl.a. thylakoidproteaser som bryter ned D1-proteinet i fotosyntesen

For å få tilgang til gjenbrukbart protein i kloroplastene må klorofyll fjernes fra proteinkomplekser. Fytolhalen fjernes fra tetrapyrrollringen i klorofyll katalysert av enzymet klorofyllase og produktet er **klorofyllid**. Deretter fjernes magnesium av magnesium dechelatase og det dannes **feoforbid**. Ved hjelp av oksygen og redusert ferredoksin nedbrytes feoforbid til rødfargete vannløselige klorofyll katabolitter. Neste trinn, katalysert av en reduktase, lager fargeløse katabolitter som gir blå fluorescens. Flere enzymer deltar deretter i den videre nedbrytningen av molekylene.

## Ultrafiolett stråling

Ozonlaget i stratosfæren er et effektivt UV-filter som absorberer omtrent all stråling med bølgelengde kortere enn 280 nm. Stoffer som bryter ned stratosfæreozon vil gi økt mengde UV-stråling på jorda. Som all annen stråling kan UV spres av molekyler i atmosfæren, reflekteres fra overflater og absorberes. Intensiteten av UV øker med høyden over havet. UV-stråling kan også trenge ned i vann. Proteiner absorberer UV, topp ved 280 nm, og nukleinsyrer absorberer maksimalt med UV ved 260 nm. På landplantene danner epidermis og kutikula en effektiv barriere mot UV-lys, slik at UV med bølgelengder kortere enn 300 nm absorberes fullstendig. UV B aktiverer biosyntese av flavonoider og fenoler i epidermis på plantene. Den kjemiske sammensetning av kutikula og vokslag endres. Flavonoidene samles i vakuolene i epidermisceller og hindrer at stråling med kortere bølgelengde enn 400 nm trenger lenger inn i planten. I praksis betyr dette at det er bare synlig lys som kommer fram til kloroplastene i bladcellene hos UV-tolerante planter. UV-tolerante planter har i tillegg et aktivt antioksidantforsvar. Laboratoriforsøk har vist at fotosyntese og produktivitet hos diatoméer, dinoflagellater og annet fytoplankton minsker ved UV-stråling. Algene i vann kan miste evnen til å bevege seg i vannmassene og kan derved bli utsatt for skadelig UV. UV vil kunne absorberes av humusstoffer i vann som kan gi opphav til reaktive stoffer. Hos UV-følsomme planter kan UV gi flere typer skader:

- 1) Inaktivering og skader i fotosystemene i fotosyntesen.
- 2) Dannelse av thymindimere (syklobutyl-pyrimidin-dimere og pyrimidin(6-



4)pyrimidinon) og andre UV-produkter.

Planter bl.a. i skjermplantefamilien inneholder furanokoumariner. Når furanokoumariner bestråles med UV vil de bindes til til cytosin og thymin inne i DNA-heliksen og danne kryssbindinger. I tillegg kan det skje fotodynamisk produksjon av singlett oksygen.

UV-lys brukes til å drepe bakterier i rom som skal være sterile. Blågrønnbakterier som *Lyngbya* inneholder scytonemin i slimskjeden som absorberer sollys. Dinoflagellater inneholder mycosporin-lignende aminosyrer som spiller samme rolle.

## Reparasjon av UV-skader

Blått lys og UV-A deltar i reparasjon av UV-skader på DNA ved hjelp av et **fotoreaktiveringsenzym**. Enzymet er en **fotolyase** som absorberer blått lys og omdanner syklobutandimere til frie pyrimidin molekyler. DNA kan også repareres på to andre måter:

1) Baseutkuttingsreparasjon. En skadet base fjernes av en DNA glykosylase. En endonuklease kjenner igjen skadestedet, og lager et kapp i DNA-tråden. En deoksyribose fosfodiesterase fjerner gjenværende sukker. Deretter blir riktig base satt inn av DNA polymerase, og skjøtingen skjer med en ligase.

2) Nukleotidutkuttingsreparasjon hvor et område med lengde opptil 30 baser som inneholder skadet DNA blir fjernet av et DNA-replikasjonsenzymkompleks, og blir erstattet med korrekt sekvens. Skadet område gjenkjennes av en endonuklease og blir kuttet ut. Helikase tvinner ut tråden ved skadestedet og ny DNA-sekvens settes inn av DNA polymerase og ligase limer skjøtene.

## Oksidativt stress

Alle organismer kan utsettes for oksidativt stress. Det skjer en rekke en- elektronoverføringer i metabolismen via transisjonsmetaller bl.a. jern og kobber og et elektron har mulighet til å komme i kontakt med oksygen og danne superoksidanionradikalet av oksygen. Et pigment, lys og oksygen kan gi singlett oksygen. Elektromagnetisk stråling i det synlige område er uskadelig. Radioaktiv stråling hvor elektroner kastes ut kan gi prematur aldring eller fremskyndet aksellerert aldring. Dette kan skje ved en degenerering av kontrollmekanismene og en økning av konsentrasjonen av hydrogenperoksid. Hydrogenperoksid påvirker konsentrasjonen av kalsium i cytoplasma og gir lukking av stomata. Et **radikal** er et stoff som har odde antall elektroner. Radikaler, også kalt fri radikaler, har kort levetid og induserer aldring og skader på biologiske systemer.

Hos mennesker er aldring relatert til akkumulering av produkter fra malondialdehyd (MDA). MDA er et giftig ikke nedbrytbart produkt fra fettperoksidering via radikaler. MDA danner kompleks med DNA og organiske stoffer og akkumuleres som lipofuscine, et fluorescerende stoff. Lipofuscin-lignende stoffer finnes også i planter. Oksygenforgiftning skyldes ubalanse i likevekten i oksygenkonsentrasjonen som trengs for å frigi energi.

Såring gir degradering av lipider som gir opphav til etan og fleire andre flyktige hydrokarboner.

## Antioksidanter og antioksidantenzymmer

Flavonoider bl.a. anthocyaniner, samt askorbinsyre (vitamin C) og  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E) virker som antioksidanter i planter. På frukt og grønnsaker er innholdet av antioksidanter høyest i skallet. Falcarinol finnes i gulerøtter. Askorbat peroksidase, peroksidase, katalase er enzymer som fjerner hydrogenperoksid fra metabolismen. Peroksidaser foretar katalyttisk redusjon av hydrogenperoksid som blir en elektronakseptor og oksidasjon av en hydrogendonor. Superoksid dismutase dimuterer superoksid og danner hydrogenperoksid.

## Aldring

Alt levende liv begynner å eldes fra det øyeblikk det fødes. Det vi forbinder med aldring hos planter er at klorofyllet forsvinner og bladene blir gule. Plantene viser stor variasjon i hvor raskt aldringen skjer. Blomsten hos "flower for a day" (*Ipomoea tricolor*) dør i løpet av en dag. Vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*) spirer, blomstrer, setter frø og dør i løpet av 30 dager. Den andre ytterligheten er urfuru (*Pinus aristata*) og amerikansk mamuttre (*Sequoiadendron giganteum*) som blir nesten 5000 år gamle. En osp (*Populus tremula*) som sprer seg med stadig nye rotskudd er en klon med i teorien tilnærmet uendelig levetid. En slik betraktning kan også brukes på planter som har hvileperioder som frø før de spirer på nytt. Monokarpe planter blomstrer og setter frukt bare en gang. *Agave* og bambus er vegetative i 12-120 år før de blomstrer, for deretter å dø. Polykarpe planter blomstrer og setter frukt årvisst gjennom mange vekstsesonger. Toppaldring kalles fenomenet hvis de overjordiske delene av en plante dør, mens røtter og rotstokk overlever. Hos flerårige planter, busker og løvtrær er det sesongvariasjoner i aldringen.

Levealderen til ettårige planter kan økes ved å fjerne blomster, frukt og frø. Det er velkjent at blomstringen hos en plante kan forlenges ved å fjerne visne blomster før de danner frukt. Dette betyr at aldring er koblet til indre signaler ved blomstring og frøproduksjon. Men også miljøet påvirker. Dyrkes en kortdagsplante under lange dager eller en kuldekrevede plante ved høy temperatur utsettes aldringen. De delene av planten som skal sikre at planten overlever som art har monopol på næringstilførselen. Dette gjelder både de vegetative deler, rot eller rotstokk, og frukt og frø. Næringsmangel kan fremskynde aldring. Faktorer som starter aldringen kan ligge i omgivelsene styrt av årstid, et indre hormonelt styrt utviklingsprogram eller være forårsaket av patogene organismer.

**Cystein peroksi-redoksiner** er peroksidaser som ikke inneholder hem, og disse reduserer hydrogenperoksid og alkylhydroperoksider ved intramolekylær thiol-disulfidoverføring i enzymet. I reaksjonen blir hydroperoksider oksidert til alkohol og

hydrogenperoksid til vann. Det kan være en eller to cystein som inngår i reaksjonen.

## Lukt av blomster og frukt

Flyktige stoffer fra blomster kommer fra kjertelceller (trichomer) eller kronblad. Lukten av sitron, kamfer, peppermynte, harpiks kjenner alle tid. Blomsterduft skyldes terpenener, benzenoider og fenyylpropanoider. Jasminer er ca. 200 arter som hører med til oliventrefamilien (Oleaceae) og alle har hvite eller gule blomster. Navnet jasmin kommer fra arabisk og betyr tung luft. Tempeljasmin (*Jasminum sambac*). Eterisk olje til parfyme og inneholder mye eugenol, (E)-isoeugenol, linallol, benzylacetat, p-cresol, 2-metoksy-p-cresol. Det er ikke nødvendigvis sammenheng mellom mengde aktivt stoff og lukt. Blomster har god lukt er liljekonvall (*Convallaria majalis*), linnea (*Linnea borealis*), marsfiol (*Viola odorata*), roser (*Rosa*), nellik (*Dianthus caryophyllus*). Lukten av løvemunn (*Anthirrinum*) n skyldes metylbenzoat. Aroma fra jordbær (*Fragaria*) skyldes flyktige estere og er en blanding av 300 forskjellige stoffer (aldehyder, ketoner, alkoholer, syrer, estere, epoksider, acetaler, fenoler, furaner S-forbindelser og laktoner).

Estere kan lages av alkohol acyltransferase som kobler sammen et alkohol og f.eks. acetyl-CoA.

Lukten av høy og tørket gress skyldes koumarin bl.a. fra gulaks (*Anthoxanthum odoratum*) . Spesielt illeluktende er åkersvinerot (*Stachys palustris*) og stankstorknebb (*Geranium robertianum*). Katter tiltrekkes av kattermynte (*Nepeta cataria*) som inneholder neptalakton og legevendelrot (*Valeriana officinalis*).

## Prokaryoter og mikronæringsnett

Alle levende organismer trenger **kjemisk energi** i form av adenosin trifosfat (ATP) og **reduksjonskraft** i form av nikotinamid dinukleotid (fosfat) i redusert form (NAD(P)H). Organismer som får alt sitt karbon fra organiske forbindelser kalles **heterotrofe**. Det vil si at organiske molekyler er et lager av karbon, elektroner og protoner. De som bruker karbondioksid som karbonkilde kalles **autotrofe**. Organismer som bruker lys til å lage ATP kalles fototrofe. **Kjemotrofe** bruker energien i kjemiske bindinger i organiske molekyler (**kjemoorganotrofe**) eller i uorganiske molekyler (**kjemolitotrofe**) til å lage ATP.

Blant prokaryotene finnes det både ftoheterotrofe, fotoautotrofe, kjemoheterotrofe og kjemoautotrofe organismer. Hos eukaryotene er det bare fotoautotrofe (eks. planter) og kjemoheterotrofe (eks. sopp og dyr). Det er to hovedgrupper av prokaryoter Bacteria og Archaea. Bacteria har en cellevegg som inneholder peptidoglykan med repeterte enheter med N-acetylglukosamin-N-acetylmuraminsyre. Membranene hos Bacteria er bygget som glyceroldiestere, som også er vanlig blant eukaryoter, mens Archaea har membraner med glycerol dieterer eller glycerol tetraetere. Både Bacteria og Archaea har ribosomer bygget opp av 30S og 50S subenheter. Hos Bacteria starter proteinsyntesen med formylmethionin festet til tRNA, mens i Archaea er det methionin, som hos eukaryotene. Både oksidativ fosforylering og fotosyntese hos

Bacteria og Archaea skjer i membraner, mens det hos eukaryotene er lokalisert til henholdsvis mitokondrier og kloroplaster. Archaea har polyadenylylering av mRNA som hos eukaryotene, mens Bacteria mangler dette.

Archaea er bakterier som er tilpasset ekstreme livsmiljøer og de er enten metanogene, ekstremt halofile eller ekstremt termofile ved å tåle temperaturer opptil 100°C og ekstremt surt miljø med pH < 2.

Den danske legen Hans Christian Gram fant i 1884 en metode til å farge bakterier med en løsning som inneholdt krystallfiolett og jodid. Bakterier som raskt med avfarget med alkohol eller aceton etter fargingen ble kalt **Gram negative** (G-). De som beholdt fargen ble kalt **Gram positive** (G+). Hvor lett fargen beholdes eller vaskes vekk henger sammen med hvordan den ytre celleveggen til bakteriene er bygget opp. Gram negative bakterier har en tynn vegg med peptidoglykan som på utsiden er dekket av en membran. Membranen har ytterst et lag med lipopolysakkarider og innerst fosfolipider. På grunn av yttermembranen tåler Gram negative bakterier høyere konsentrasjon med antibiotika. Gram positive bakterier har bare en tykk vegg med peptidoglykan.

Metabolismen i en organisme kan deles i **anabolisme** som bygger opp molekyler, og **katabolisme** som bryter molekyler ned til mindre fragmenter. I katabolismen fjernes elektroner og protoner i en oksidasjon, og det blir produsert energi og karbonskjeletter.

Energiproduserende katabolisme kan deles i:

1) **Respirasjon** hvor organiske stoffer oksideres til karbondioksid i trikarboksylsyresyklus. Ved **aerob respirasjon** er det oksygen som mottar elektroner og protoner. Ved **anaerob respirasjon** er det uorganiske oksiderte stoffer som er elektronakseptor. Eksempler på elektronakseptorer ved anaerob respirasjon er sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), svovel (S), karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) og ferrijern ( $\text{Fe}^{3+}$ ), men organiske stoffer som fumarat kan brukes. Den protondrivende kraften brukes til å lage ATP ved **oksidativ fosforylering** katalysert av ATP syntase.

2) **Fermentering** uten oksygen hvor det brukes organiske stoffer som elektronakseptorer. ATP lages ved **substratnivå fosforylering**.

## Energi til livsprosessene

Bakteriene er metabolsk fleksible med stor evne til å skifte metabolismetype avhengig av omgivelsesfaktorene. Kjemolitotrofe bakterier bruker reduserte uorganiske stoffer som elektronkilde, med oksygen ( $\text{O}_2$ ) som endelig elektronakseptor, og anaerobt f.eks. sulfat eller karbondioksid. Eksempler på elektrondonorer er hydrogen ( $\text{H}_2$ ), ferrojern ( $\text{Fe}^{2+}$ ), hydrogensulfid ( $\text{H}_2\text{S}$ ), svovel (S), nitritt ( $\text{NO}_2^-$ ) eller ammoniakk ( $\text{NH}_3$ ). Eksempler på bakterier som bruker oksygen som elektronakseptor som derved omdannes til vann:

Elektrondonor	Elektronakseptor	Mikroorganisme
$H_2 \rightarrow H_2O$	$O_2 \rightarrow H_2O$	Hydrogenbakterier
$H_2S \rightarrow S$ eller $S \rightarrow SO_4^{2-}$	$O_2 \rightarrow H_2O$	Svoveloksiderende bakterier ( <i>Thiobacillus</i> )
$NH_3 \rightarrow NO_2^-$	$O_2 \rightarrow H_2O$	Ammoniumoksiderende ( <i>Nitrosomonas</i> )
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$	$O_2 \rightarrow H_2O$	Nitritt oksiderende ( <i>Nitrobacter</i> )
$H_2 \rightarrow H_2O$	$CO_2 \rightarrow CH_4$	Metanogene bakterier

Eksempler på aerob og anaerob respirasjon hos noen kjemolitotofe bakterier.

Elektron donor	Elektron akseptor	Mikroorganisme
Organisk stoff $\rightarrow CO_2$	$O_2 \rightarrow H_2O$	Aerobe bakterier
Organisk stoff $\rightarrow CO_2$	$SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$	Sulfatreduserende
Organisk stoff $\rightarrow CO_2$	$NO_3^- \rightarrow NO_2^-$	Nitratreduserende
Organisk stoff $\rightarrow CO_2$	$NO_2^- \rightarrow N_2$	Denitrifiserende
$CH_4 \rightarrow CO_2$	$O_2 \rightarrow H_2O$	Metanotrofe

Organisk stoff → oksidert organisk stoff	Organisk stoff → redusert organisk stoff	Fermentering (etanolbakterier/melkesyrebakterier)
------------------------------------------	------------------------------------------	---------------------------------------------------

Eksempler på kjemoorganotrofe bakterier.

I økologiske nisjer danner bakteriene **næringsnett** hvor stoffer som er elektronakseptor for en type bakterier kan brukes som elektrondonor av en annen gruppe.

Fototrofe bakterier bruker lysenergi til å drive elektrontransporten. Blågrønnbakterier har **oksygenproduserende fotosyntese** med vann som elektron- og protonkilde. Fotosyntetiske bakterier som lever anaerobt har **anoksisk fotosyntese** og bruker f.eks. hydrogensulfid som elektrondonor. Purpur ikke-svovelbakterier som kan drive anoksisk fotosyntese kan leve på organiske stoffer hvis oksygen er tilstede. I saltbakterier som *Halobacterium* absorberes lys av retinal bundet til et protein i membranen kalt **bakteriorhodopsin**. Når retinal gjennomgår *cis-trans* isomeriseringer pumpes protoner ut av cellen som gir en protodrivende kraft som lager ATP.

Småstykker

## Ved til brensel

Det er så mangt som brukes til ved. Knitrende grankvister og bakhun, stillebrennende bjerk eller sotende furu. Den veden varmer mest som er tyngst og tettest i tørr tilstand. At ved veier forskjellig vises ved ytterlighetene lett balsatre og og tung ibenholt. Veden av ask og eik er tung. Bjerk er middels tung og osp, selje og gran har lett ved. Vi må bære mer av disse enn ask for å få samme varme.

Ved, og da helst av løvtrær, brukes til å lage trekull. En nødvendighet i dagens utegrilling.

Etter at bålet har slukket ligger det igjen en gråhvit aske. Den består vesentlig av kaliumkarbonat. Kaliumkarbonat, kalt pottaske, ble utkrystallisert i leirkar av vannuttrekk av asken. "Potassium" som er det engelske navnet på kalium viser sammenhengen mellom kalium og pottaske. Skulle man i gamle dager ha askelut var det slik pottaske som ble brukt. Askeluten var nødvendig når det skulle lages såpe fra fett. Luten bryter bindingen mellom sukkeralkoholet glycerol og fettsyrene i fett. Prossessen kalles forsåpning. Askelut kunne også brukes til vask og til å lage lutefisk. Brennes det mye bark blir ikke lenger asken hvit, men brunrød. De mørke fargene skyldes både jern og mangan. Planter som vokser på sur jord, som gran, kan lett få tak i dette. Ved å helle ut aske som gjødsel virker dette som en form for kalking i tillegg til kaliumtilførsel

## Tjernet som gror igjen

Mindre sjøer og tjern vil gjennomleve en utvikling. Plantene rundt og i vannet vil kunne lage mer stoff enn det som nedbrytes. Rundt et skogstjern er det lite vegetasjon sammenlignet med en næringsrik eutrof sjø. Torvmoser danner en flytematte rundt det næringsfattige vannet. I dette området vokser det både bukkeblad, vannliljer og tjønnaks. Innholdet av kalsium og nitrogen er lavt i vannet. På den næringsfattige torva vokser røsslyng, multe og furu. Plantene i myrkanten er utsatt for sterk solinnstråling og fordampning. Røsslyng har spalteåpningene i en håret fure på undersiden av bladet og tåler tørken godt. I mer næringsrike vann vil det vokse takrør og elvesnelle langs vannet. Der det blir litt tørrere trives flaskestarr. Er vannet næringsrikt vokser det opp en oreskog. Med tiden vil både tjernet og det næringsrike vannet gro igjen hvis vanddybden er liten.

## Naturkalender

Hvordan veksten av de forskjellige plantene utvikler seg utover våren og sommeren og hvordan de påvirkes av været kalles **fenologi**. I begynnelsen av april vil hestehov og hassel blomstre på Østlandet mens snøflekken enda ligger. Deretter kommer or, selje og hvitveis og i begynnelsen av mai starter våronna. Gjøken eller sågauken som den også kalles er da som regel på plass. Løvsangeren kommer samtidig med at bjerka har fått utviklet bladene. I midten av mai starter blomstringen av marianøklebånd og liljekonvall. I slutten av måneden er heggen og løvetannen i fullt flor og det er tid for hageeieren å så bønner og mer varmekrevende frø. Så kommer plantene på rekke og rad med blomster utvoer sommeren. I begynnelsen av august begynner røsslyngen å blomstre og bikubene settes ut i marka forat biene skal samle lynghonning. Har vi kommet ut i september starter trærne med å bli gule og felle løvet. En slik utvikling gjennom vekstsesongen er koblet til når forskjellige trekkfulger kommer og reiser, og når det er på tide og høste og så. Hvert sted i Norge har sin egen naturkalender.

## Kartlegging av vegetasjon from verdensrommet

Klorofyllenes grønne farger preger planteriket. Karotenoidene fanger opp blått lys. Mørkerødt og kortbølget infrarødt lys reflekteres fra plantene. På bilder tatt med infrarød fargefilm får vegetasjonen en kunstig rødfarge. Øyet vårt registrer fargene fra synlig lys som kastes tilbake fra vegetasjonen. Fra et flyvindu gir landskapet et fargemosaikkbilde. Den virkelig store oversikten over vår klode får vi fra jordressurssatelitter av mange typer som svever over oss. Noen av disse har instrumenter måler refleksjonen i synlig lys og av kortbølget og langbølget varmestråling (infrarødt lys). Tilsammen gir dette bilder i form av tall. Datamaskiner med stor regnekapasitet omformer disse til vanlige bilder. Solstrålingen reflekteres avhengig av fargen, strukturen og plassering av cellene og vanninnholdet i



planten. Dette gir forskjellig **spektralsignatur** fra vann, jord, fjell, løvskog og furuskog. Ut fra denne signaturen kan vi bestemme hvilken type vegetasjon det er og om det skjer langsiktige endringer som: Skogområder som forsvinner, dyrkbar jord brukes til boligbygging og industri.

Bladet tar opp lite infrarødt lys og som da sendes ut igjen. Bladet lyser derfor opp på en infrarød film.

\*\*\*\*\*

Rester:

Radialmønsteret i globulære stadiet av embryo bestemmes av knolle og keule gener. Mutasjoner med etylmethansulfonat (EMS) gir punktmutasjoner og frø behandlet med *Agrobacterium tumefaciens* gir T-DNA insersjon som kan bryte kontrollregioner. gnom- mangler rot og frøblad, gurke mutasjon fjerner kimblad og skudd apikale meristem, fackel gir mangel og den centrale akselen slik at kimbladene festes til rota, monopteros gir mangel av hypokotyle og rot. lec (leafy cotyledon) mutant av *Arabidopsis* med forskjellig opprinnelse til blad i mutanten,

Overflatesterilisering av frø med kalsium hypokloritt.

Ptyxis er måten et blad er foldet i knoppen.

Bromoxynil hemmer elektrontransport, mens dinoseb avkobler oksidativ fosforylering. Stoffer som blokkerer celledeling er protham, oryzalin. Oryzalin bindes til plantetubulin.

No0rflurazon og fluridon hemmer karotenoid-biosyntese

EPTC hemmer lipidbiosyntese

Energitalp følges av alle spontane reaksjoner. ATP driver reaksjoner oppoverbakke. Fra karboksylsyre til aldehyd er en oppoverbakke. Kan overføres til en nedoverbakkereaksjon ved først å reagere med ATP slik at det blir en fosforylert karboksylsyre og den fosforylerte karboksylsyren kan reagere med NAPH og gir deretter aldehyd.

. Fotosyntesen er viktig for å regulere innholdet av oksygen og karbondioksid i atmosfæren. I fotosyntesen reduseres luftens karbondioksid til sukker. Oksygen som skilles ut i luften kommer fra vann. Karbon og oksygen fra karbondioksid utgjør 93 % av sukkerets vekt. Hydrogen utgjør 7 % av sukkerets vekt og kommer fra vann. Dette betyr at alle skoger og planter på jorda er bygget opp vesentlig av luftas karbondioksid.

Fagocytose . Bytte (planter og små dyr) spises av encellede dyr . Amøber flytende gele flyter til omgir. Membranene danner en sekk som inneholder byttet . Sekken

kalles fødevakuole (matvakuole) Dyr har celler som kan leukocytter. Pinocytose celledrikking. Dråper av væske tas opp av celler på samme måte som fagocytose omgis av membran. Stoffet kan skilles ut med den motsatte av prosessen til fagocytose. Noen stoffer transporteres omgitt av en cellemembran

## Hva skjer når et stoff brenner

I nærvær i luft vil brenning gi binding med oksygen. Hydrogen binder seg med oksygen og gir vann, karbon binder seg til oksygen og gir karbondioksid. Dette er oksidasjonsreaksjoner og både karbon og hydrogen sies å bli oksidert. Sukker lages i plantene ved reduksjon av karbondioksid.

Karbon har fire elektroner i et ikke fylt neonskall. Det kan bli stabilt ved å låne 4 elektroner. De enkleste karbonforbindelsene er med hydrogen f.eks. metan  $\text{CH}_4$ . Metan var en gass i den primitive atmosfæren. Gummi og karotener er eksempler på rene hydrokarboner. Alle organiske stoffer med en OH-gruppe er alkoholer. Ammoniakk kan kovalent bindes til karbon. Nitrogenet er fremdeles en base og tiltrekker seg et proton i denne bindingen. De vanligste organiske syrene er karboksylsyrer. Mange viktige stoffer er derivater av fosforsyre. Organiske molekyler kan inneholde både sure og basiske grupper som holdes sammen av karbonatomer f.eks. glutaminsyre. Selv om vi trenger aminosyrer må vi kunne kvitte oss med overskudd. Fenylalanin omdannes til tyrosin (fenylketonuria). Sukkerene glukose og galaktose er kjemisk like  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ , forskjellen ligger i assymetriske karbonatomer. Hvis et karbonatom har fire forskjellige grupper kan disse arrangeres på to forskjellige måter i rommet som er speilbilder av hverandre. Sukker har vanligvis hydroksylgrupper festet til hvert karbonatom, men til ett er det festet oksygen med en dobbeltbinding. .

\*\*\*

Glukose og galaktose har oksygen festet til karbonatom 1. I fruktose med fem karbonatomer er oksygen i dobbeltbinding festet til karbonatom 2. . Laktose. melkesukker er galaktose festet til glukose. Heliumskall 2 elektroner, neon skall åtte elektroner, argon skall 8 elektroner, kryptonskall har 18 elektroner, xenonskall har 18 elektroner og radonskall er 32 elektroner

Energitalp følges av alle spontane reaksjoner. ATP driver reaksjoner oppoverbakke. Fra karboksylsyre til aldehyd er en oppoverbakke. Kan overføres til en nedoverbakkereaksjon ved først å reagere med ATP slik at det blir en fosforylert karboksylsyre og den fosforylerte karboksylsyren kan reagere med NAPH og gir deretter aldehyd.

Binding av et hormon til en receptor stimulerer ofte nedbrytningen av **fosfatidylinositol** (PI), en av fosfolipidene i cytoplasmahalvdelen av plasmamembranen. Det er tre forskjellige fosfatidylinositider og de atskiller seg i grad

av fosforylering. Hydrolyse av en av disse PI 4,5bisfosfat ( $PIP_2$ ) vha fosfolipase C gir produktene 1,2-diacylglycerol (fettløselig) og inositol 1,4,5-trifosfat ( $InsP_3$ ) (vannløselig).  $InsP_3$  gir transient økning i kalsium. Diacylglycerol aktiverer en Ca-proteinkinase, protein kinase C. Protein kinaser er enzymer som fosforylerer aminosyrene tyrosin og serin/threonin i proteiner. Fosfatgruppen kan fjernes (defosforylering) av enzymerne fosfataser.

G-proteiner er sammensatt av flere subenheter hvorav en kan binde GTP. Andre deler av G-proteinet kan reagere med spesifikke hormonreceptorer slik at G-proteinet blir aktivert som igjen aktiverer fosfolipase C.

## Cellens molekylærbiologi

*"Og stundom ser jeg paa Græsset og Græsset ser kanskje paa mig igjen, hvad vet vi? Jeg ser paa et enkelt Græsblad, det skjælver kanske litt, og det synes jeg er noget. Jeg tænker ved mig selv: her staar nu dette Græsblad og skjælver! Og er det en Furu jeg ser paa saa har den kanske en Gren som faar mig til at tænke litt om den ogsaa."* Fra Knut Hamsun: Pan

Når plantemateriale homogeniseres i en morter eller Waring-blender firgjøres molekylene og formen ødelegges. Hvordan kan molekyler skape form? **DNA** ("deoxy ribonucleic acid") og **RNA** ("ribonucleic acid") inneholder genetisk informasjon i **genomet**. Ved **transkripsjon** oversettes DNA til budbringer RNA (mRNA) og ribosomalt RNA (rRNA). mRNA bundet til ribosomer oversettes til protein ved **translasjon**. Ved celledeling kopieres DNA ved **replikasjon**. DNA og RNA er satt sammen av nukleotider (puriner og pyrimidiner). DNA inneholder adenin, thymin, guanin og cytosin med bokstavkodene henholdsvis A, T, G og C. Hos RNA er thymin erstattet med uracil (U). Nukleotidene er festet sammen i en fosfodiesterbinding mellom karbon 5' i et nukleotid bundet til karbon 3' i den neste. Det er suktermolekylene som hektes sammen, ribose i RNA eller deoksyribose i DNA. Ribose har en fri hydroksylgruppe i 2'-posisjon som deoksyribose mangler. RNA er mer ustabil enn DNA. DNA danner en dobbelheliks med to antiparallele kjeder med de hydrofobe basene inn mot sentrum av heliksen. A henger sammen med T i 2 hydrogenbindinger, og G henger sammen med C i 3 hydrogenbindinger. Cellulært RNA er enkelttrådet.

## DNA replikasjon - fra DNA til DNA

DNA replikasjonen består av delprosessene start, forlengelse og avslutning. Replikasjonen starter flere steder på DNA-heliksen, observeres som

replikasjonsbobler, og de to trådene atskilles og danner en replikasjonsgaffel katalysert av en ATP-avhengig helicase. **DNA polymerase** binder seg til deoksyribonukleotidkjeden og kopierer i 5' til 3'-retning. For å kunne begynne trenger imidlertid DNA en **primer** som lages av en DNA primase (ribonukleotid polymerase). Den ene DNA tråden kopieres kontinuerlig og den andre i diskontinuerlige biter kalt **Okazakifragmenter** som limes sammen av DNA ligase. RNA primeren fjernes av en ribonuklease (Rnase) og erstattes med DNA. Begge trådene virker som templat (semikonservativ replikasjon) og det leses korrektur under kopieringen. Det finnes 3 forskjellige DNA polymerase. Enden av kromosomet inneholder **telomere** med repetert DNA. Siden DNA polymerase trenger en primer ville det ha forsvunnet litt av enden av kromosomet ved hver replikasjon hvis disse telomerene ikke hadde vært der. Telomerase opprettholder enkelttrådet hale og unngår at den blir kortere.

Ultrafiolett lys (UV), radioaktiv stråling, alkylerende stoffer og radikaler kan skade DNA. Det finnes flere forskjellige aktive reparasjonssystemer. UV-skader med thymindimere kan repareres av fotoreaktiveringsenzymer. Feil baser kan fjernes av DNA glykosylase eller via DNA polymerase. Reparasjon kan også skje ved **homolog rekombinasjon**. Homolog rekombinasjon vil si bytte mellom like sekvenser på homologe kromosomer. Dette kan skje ved bytte av sekvenser ved overkrysning eller ved å overføre en DNA-tråd uten bytting. Rekombinasjon under meiosen er viktig for å skape ny variasjon som evolusjonen kan virke på.

DNA eller RNA i virus koder for få gener og utnytter vertscellens gener til å kopiere DNA. RNA-virus har revers transkriptase som lager DNA fra RNA.

## DNA transkripsjon - fra DNA til mRNA

Hos eukaryotene lages RNA i cellekjernen av tre forskjellige **RNA polymerase**. RNA polymerase I lager mest **ribosomalt RNA**, RNA polymerase II lager **mRNA** og RNA polymerase III lager overførings RNA (**tRNA**) og andre typer RNA. RNA kan kategoriseres etter hvordan det sedimenteres i en gradient ved ultrasentrifugering, oppgitt som en sedimentasjonskoeffisient i Svedberg enheter (S). 4S RNA omfatter tRNA og andre mindre RNA. Det finnes minst 20 forskjellige tRNA som kan binde hver sin aminosyre og som kan baseparre med kodoner på mRNA, men flere tRNA kan binde samme aminosyre. tRNA i cellekjerne, kloroplaster og mitokondrier er forskjellige.

Bare den ene tråden virker som templat, og RNA polymerase binder seg først til et område av DNA kalt **promoter** område oppstrøms for replikasjonsstart og som ofte inneholder spesielle sekvenser som GC-boks (ca. -100 bp), CAAT-boks (-80 bp) og TATA-boks (-25 bp) Flere typer **transkripsjonsfaktorer** (Zn-fingere, leucinzipperer, heliks-vending-heliks) binder seg til spesifikke sekvenser på DNA (proksimale kontrollelementer, *cis*-sekvenser) og bestemmer om et gen skal uttrykkes eller ikke. Det finnes også distable reguleringssekvenser, opptil 1000 bp oppstrøms eller nedstrøms for promoter. RNA syntetiseres komplementært til minus DNA tråden og beveger seg i 3' til 5'-retning og lager RNA i 5' til 3' retning. RNA sekvensen blir derved lik pluss-tråden bortsett fra at thymin er erstattes med uracil. Transkripsjonen skjer bare viss DNA er tilgjengelig for RNA-polymerase. Siden DNA inneholder ikkekodende introns må disse fjernes fra det primære transkriptet. RNA virker som et

enzym kalt **ribozym** og kan skjøte og spalte seg selv. At RNA kan replikere seg selv utnyttes av noen virus. Små nukleære RNA (snRNA) deltar i skjøting av pre mRNA til mRNA lokalisert i små ribonukleoproteinpartikler. Det ferdige modifiserte mRNA transkript inneholder i den ene enden en **cap** som beskytter mot degradering, etterfulgt av et **startkodon** AUG og et **stoppkodon** (UAG/UAA/UGA) som atskiller en **åpen leseramme**. Bakerst er en variabel uttranslatert region og det hele avsluttes med en **poly-A hale**. mRNA utgjør bare en liten andel av den totale mengde RNA i cellen og mRNA har varierende stabilitet. **Epigenetikk** vil si ikke-arvelig endring ved DNA- eller histon-metylering katalysert av metyltransferaser, eller demetylering via demetylase. Epigenetiske endringer i genomet skjer uten å endre DNA-sekvensen.

Ved RNA-interferens (kosuppresjon, "gene silencing") som gir enslukning reguleres stabiliteten til mRNA, som vanligvis er enkelttrådet (ssRNA), men det finnes ikke-kodende RNA (ncRNA) og dobbeltrådet RNA (dsRNA), og dobbeltrådet RNA blir kuttet i biter og gir RNA-interferens. Et slik RNA-indusert kosuppresjon kan fungere som beskyttelse mot virusangrep hvor fremmed DNA nedbrytes. Kosuppresjon kan også brukes som metode for å lage genmodifiserte planter, hvor det viser seg at innsetting av et ekstra gen for et gen som allerede er i planten, skrur av det endogene og innsatte genet. Genmodifisert *Petunia* med et ekstra innsatt gen for chalkon syntase fikk spottete blomster i purpur og hvit. Det finnes også mikro-RNA som deltar i mange reguleringsprosesser, og korte interfererende RNA (siRNA) som kommer fra repetert DNA.

## Translasjon - fra mRNA til protein

Translasjonen skjer ved at riboproteiner leser av informasjonen på mRNA og oversetter triplerter til aminosyrer i polypeptidkjeden (**den genetiske koden**). Deretter foldes proteinene i den 3-dimensjonal struktur karakteristisk for hver type protein. Koblingen mellom kodonet og aminosyren skjer via t-RNA som inneholder et **antikodon**. 2-dimensjonalt ser t-RNA ut som et kløverblad med stammer og løkker, men den 3-dimensjonale strukturen er mer komplisert. Enzymet **aminoacyl-tRNA syntetase** fester aminosyrer til 3'-enden på tRNA i en ATP avhengig reaksjon. Proteinsyntesen i cytoplasma skjer på ribosomer som til sammen danner polyribosomer som kan lese flere mRNA samtidig. Starten skjer ved at mRNA, elongeringsfaktorer (eIF2), met-tRNA, GTP og 40S RNA bindes i et kompleks sammen med 60S RNA og flere andre **elongeringsfaktorer** (eIF1-eIF6) som kjenner igjen cap. Startkodonet identifiseres og deretter starter translasjonen på 80S ribosomet i 5' til 3'-retning, og proteinet lages fra den N-terminale aminogruppen til den C-terminale karboksylgruppen. I cytoplasma er mRNA vanligvis **monocistronisk**.

I plastidene er mRNA polycistronisk med flere leserammer. Proteinene starter med formyl-methionin og 16S RNA i 30S kan i noen tilfeller kjenne igjen en Shine-Dalgarnosekvens ovenfor transkripsjonsstart AUG som hos prokaryotene. Proteiner som lages i kloroplastene og som skal til thylakoidene lages på ribosomer festet til thylakoidmembranene. Imidlertid blir de fleste proteinene i kloroplastene laget i cytoplasma. Proteinsyntesen er regulert av lys, og redoksforholdene i cellen er en av reguleringsfaktorene. Posttranskripsjonsregulering kan skje ved stabilitet av mRNA, proteinstabilitet og effektivitet.

## Gener koder for proteiner

Det viste seg at Mendels faktorer var gener med forskjellige genutgaver (**alleler**), dominante eller recessive, og i en populasjon kan det være flere alleler. Den arvelige komponenten i et individ er genotypen og genene nedarves i samlinger/lenkegrupper og mange gener finnes i **multigenfamilier** f.eks. ribosomale gener og gener som koder for rubisko, lyshøstende klorofyllprotein og lagringsproteiner i frø. Et genkart bestemmer posisjonen til genene, men McClintock viste at stykker av DNA kan flytte seg på kromosomet i form av **transposoner** og **retrotransposoner**, noe som har hatt stor betydning for evolusjonen. Inverterte repeterte sekvenser i hver ende av et transposon gjenkjennes av en transposase som deltar i flyttingen. Retroelementer og retrotransposoner har fast plass i genomet og lager en RNA-kopi og flytter via et RNA intermediat hvor kopien settes inn på forskjellige steder i genomet. DNA-transposoner flytter seg ved klipp og lim, hvor en transposase kutter ut transposonet og setter det inn på et annet sted. Transposonaktivitet er regulert via metylering av DNA og histoner, og hemmer også transkripsjon av heterokromatin. Metylerte transposoner finnes i heterokromatinregionen, mens umetylerte transposoner er aktive og gir mutasjoner. Aktiviteten til transposoner kan øke under stress. Størrelsen på genomene hos forskjellige organismer varierer mye og det er ingen sammenheng mellom genomstørrelse og en organismes kompleksitet. Årsaken ligger i det variable områdene mellom genene hvor det finnes enkeltkopi og repetert DNA, enten tandemrepetert eller kopiene spredt over hele genomet. Homeobokspoteiner er med å bestemmer utvikling av organer og vev. Det finnes mange **vevsspesifikke gener** som har uttrykkes i en bestemt type vev. Omgivelsesfaktorer påvirker også genuttrykk. Plantene kan ikke flytte seg og må motta signaler fra omgivelsene som omsettes til responser. DNA er pakket med lange løkker festet til et skjelett og histoner kan påvirke hvor tilgjengelig DNA er. **Epigenetisk variasjon** (somaklonal variasjon) skyldes ikke endring i DNA-sekvens. Årsaken kan være **DNA metylering** av cytosin, metylering eller acetylering av histoner, **kosuppresjon** eller **mRNA stabilitet**. Uttrykket av et gen kan også påvirkes av hvilke av foreldrene det kommer fra, og noen gener uttrykkes sterkere hvis de kommer fra moren enn fra faren. I utviklingen av endospermen i frø har to deler maternal opprinnelse og en del paternal. Uttrykket av et allel kan påvirke uttrykket av et annet allel og slike paramutasjoner kan nedarves i meiosen. Utviklingen av en organisme med organer er styrt av et komplisert genprogram, et fagområde kalt utviklingsbiologi. Kompleksiteten i programmet vises bl.a. ved at planten kan forta kontrollert celledød. Slike celledødporsesser skjer i utviklingen av endosperm, aerenkym, trakeider og vedrør, rothetteceller, og ved megasporogenese, degradering av suspensor, og visning av kronblad og pollenblad.

Bakterier beskytter seg mot fremmed DNA vha. av **restriksjonsenzymer**. Disse restriksjonsenzymene har gitt molekylærbiologene nye muligheter til å studere hvordan genomet er bygget opp. Kloningsteknikker med forskjellige typer plasmider, enzymer, kunstige bakterie- og gjærkromosomer og DNA mikromatriser (DNA brikker) har skapt en helt ny biologiindustri. Sekvensering av genomer er blitt helautomatisert og gjøres i "fabrikker". Gensekvenser og gener fra mRNA såkalte EST ("expressed



sequence tags”), fra en lange rekke organismer og organismegrupper, havner i genbanker med søkemuligheter som kan hjelpe til med å bestemme hvilken funksjon et gen har.

## Transport av proteiner

Proteiner må sendes til og inkorporeres i riktig struktur og kompartement i cellen. Det skjer en sortering av nylaget protein og en adresselapp med protein bestemmer måldomene. I endoplasmatisk retikulum gjenkjennes signalpeptidet av en signalgjenkjennelsespartikkel (SGP) som er et ribonukleoproteinkompleks. Ved ankomststedet spaltes signalet av vha. en signal peptidase. Når proteiner lages på utsiden av endoplasmatisk retikulum må det kunne passere gjennom en membranpore inn i lumen. Proteinet kan ikke passere i globulær form. F.eks. må enzymet invertase fraktes til både vakuole og cellevegg. Vesikler fra endoplasmatisk retikulum må ha et merke som bringer dem fram til bestemmelsesstedet. Transittpeptider for proteiner som skal til kloroplaster eller mitokondrier sitter i den N-terminale enden. Proteiner som skal til kjernen fraktes med vesikler fra endoplasmatisk retikulum som har et kjernelokaliseringssignal. Patogene virus som infekterer plantene har også et kjernelokaliseringssignal som gjør at de finner fram til cellekjernen.

## Enzymer er proteiner

Ordet *enzyme*, som på gresk betyr "i gjær" eller "surdeig", ble introdusert av fysiologen W. Kuhne i 1877. Hovedfunksjonen til proteiner er å være **biologiske katalysatorer**, som er organismens verktøy til å klippe opp og sette sammen molekyler. Mange enzymer får endelsen -ase etter det stoffet de bryter ned. Enzymer som spalter proteiner kalles protease, de som bryter ned cellulose kalles cellulase. Enzymene er store molekyler, men det er bare på en liten del av enzymet hvor reaksjonen foregår i et eller flere aktive seter Hos mennesker kjenner man til sykdommer som skyldes mangel eller feil ved et enzym. I 1902 oppdaget Archibald Garrod en sykdom kalt alkaptonuri hvor kroppsleddene skades. Dette skyldes at aminosyren tyrosin ikke blir nedbrutt. Føllings sykdom skyldes manglende evne til å bryte ned aminosyren fenylalanin.. Enzymene senker aktiveringsenergien og gjør at kjemiske reaksjoner kan skje ved stor hastighet ved biologiske temperaturer. Aktiviteten øker med opptil  $10^{12}$  i forhold til en ikkekatalysert reaksjon. Proteiner virker også som transportproteiner i membraner. Andre funksjoner til proteiner er å være strukturproteiner i mikrotubuli og mikrofilamenter. Basiske histoner er proteiner som beskytter DNA i kromosomene og deltar i signaloverføring i cellen. Proteiner finnes også som lagringsproteiner i frø. Proteiner er satt sammen av en eller flere kjeder med aminosyrer bundet sammen med peptidbinding (amidbinding). Dette gir en tredimensjonal struktur bestående av  $\alpha$ -helixer, vendinger og  $\beta$ -foldeplater.

Enzymene har spesifikke bindingssteder for substratene. Bindingsstedet for et substrat kalles et **aktivt sete** og finnes i form av en eller flere kløfter i proteinet. Det dannes et **enzym-substratkompleks** før produktene i enzymreaksjonen frigis. Det aktive sete kan inneholde både et bindingssete og katalyttisk sete. Kløften har spesiell



form og består av bestemte typer kombinasjoner av aminosyrer som gjør bindingen mellom enzym og substrat spesifikk. Både polariteten, ladningen og sidegruppene til aminosyrene er avgjørende for spesifisiteten. Kløften eller lommen i enzymet er så veltilpasset at enzymet er istand til å atskille stereoisomere av et substrat.

Enzymene katalyserer reaksjoner i pH-området 4-8, og ved temperaturer mellom 0 og 40°C. Hos bakterier i Archaea kan det imidlertid finnes enzymer med **pH optimum** ved pH 2 og med temperaturoptimum over 90 °C.

Hvert enzym har et eget spesifikt navn og EC-nummer. EC er forkortelse for Enzyme commission . I tillegg har enzymene ofte et trivialnavn.

Enzymene kan ha **kofaktorer** i form av metallioner eller sterkere bundet **prostetiske grupper**. Slike prostetiske grupper kan være nikotinamid adenin dinukleotid (NAD), flavin adenin dinukleotid (FAD), flavinmononukleotid (FMN), pyridoksalfosfat (PLP) og hem. De prostetiske gruppene er ikke proteiner. Det kan også være sukker bundet til enzymene og de danner da glykoprotein.

**Denaturering** av enzymer skjer når den tredimensjonale strukturen ødelegges av varme eller høye konsentrasjoner av salter eller organiske løsemidler.

Ezymkatalyserte reaksjoner viser ofte Michaelis-Menten kinetikk som er en hyperbolsk grafisk sammenheng mellom substratkonsentrasjon [S] og reaksjonshastighet (v) i et metningsplot.  $K_m$  angir substratkonsentrasjonen som gir halvparten av maksimal enzymreaksjon ( $V_{max}$ ).

**Kooperativitet** finnes for allosteriske enzymer som inneholder flere bindingssteder for substratet lokalisert til flere subenheter.

Enzymaktiviteten kan reguleres ved produkthemning eller tilbakekobling (feedback inhibering). Enzymaktiviteten kan endres ved kovalent binding ved fosforylering eller adenylylering. Hos noen enzymer blir aktiviteten påvirket og regulert av lys.

I tillegg er enzymene lokalisert til egne reaksjonsrom i cellene (kompartementer). Eksempler på slike reaksjonsrom er cellekjernen, cytoplasma, vakuoler, plastider, mitokondrier, peroksisomer, vesikler i Golgiapparatet og endoplasmatisk retikulum, samt membraner. I noen tilfeller er enzymene atskilt fra substratene og bringes i kontakt med hverandre bare når plantevev skades.

Enzymene deles i grupper ut fra hvilken type reaksjon de katalyserer.

**Oksidoreduktaser** sørger for at et stoff avgir elektroner og derved blir oksidert og det andre stoffet som mottar elektroner blir redusert. Dehydrogenase, peroksidase, katalase, oksidase og reduktase er eksempler på oksidoreduktaser. **Oksygenaser** overfører molekylært oksygen til et organisk stoff. Dioksygenaser overfører begge oksygenatomene til det organiske stoffet, f.eks. lipoksygenase. Monooksygenase overfører bare ett av oksygenatomene som danner en hydroksylgruppe og det andre oksygenmolekylet omdannet til vann. Cytokrom P450 oksidase er eksempel på en monooksygenase. **Transferaser** overfører en del av et molekyl til et annet. Aminotransferaser er et eksempel hvor en aminogruppe overføres mellom en ketosyre og en aminosyre. **Isomeraser** foretar lokale endringer innen et molekyl. **Syntetaser** lager et nytt molekyl ut fra to andre. **Hydrolaser** nedbryter et molekyl i to mindre deler samtidig som det avgis vann. **Lyaser** lager nye molekyler ved å introdusere en dobbeltbinding.

Praktisk bruk av enzymer er løype fra kalvemager som brukes til å lage ost. Nylagete proteinkjeder må foldes korrekt for at de skal kunne virke. Aminosyresekvens, pH og saltinnhold er faktorer som påvirker foldingen. Chaperoner, disulfid isomerase og prolyl isomerase er enzymer som deltar i foldingen. Proteiner som er blitt pakket feil sammen blir merket og raskt nedbrutt av proteaser.

## Ubiquitin og proteinnedbrytning

Et protein i cellen har begrenset levetid, og nedbrytning av protein pågår kontinuerlig. Skadet D1-protein i fososystem II snedes til proteolyse. Det samme gjelder klorofyll ab bindende protein hvis klorofyllsyntesen stopper opp. Ved frøspiring skjer det degradering av frølagringsproteiner. Hos dyr fraktes proteiner vakuoler kalt lysosomer som inneholder **proteaser** og **peptidaser** som bryter ned proteiner til aminosyrer. Proteinkjeden brytes ved spesielle aminosyrer som cystein, aspartat og serin. Vakuolen hos planter inneholder også proteaser men man antar at vakuolen hos planter ikke har noen stor rolle ved proteinnedbrytning bortsett fra ved aldring. Cellene skiller protein som skal nedbrytes fra protein som skal beholdes. Protein kan nedbrytes ved kovalent binding til et polypeptid med 76 aminosyrer kalt **ubiquitin** i en ATP-avhengig reaksjon. Ubiquitinmerketete proteiner brytes ned i et stort proteinkompleks kalt **26S proteasom**. Første trinn i merkingen med ubiquitin er at et enzym E1 katalyserer en ATP-avhengig adenylisering av den C-terminale enden av ubiquitin. Et protein E2 brukes til å overføres ubiquitin til en lysingruppe til proteinet som skal nedbrytes ved hjelp av et enzym E3. **Ubiquitin** er et lite polypeptid som finnes i alle eukaryoter og med stabil aminosyresekvens.

## Jorda plantene vokser i

Plantene trenger ikke jord for å vokse, de er bare avhengig av de nødvendige grunnstoffene som finnes i jorda. Derfor kan planter dyrkes på kunstige substrater med tilført næringsløsninger. Mesteparten av jorda i Norge er avleiringer etter siste istid. I jord lever plantene som oftest i symbiose med sopp (mykorrhiza). Jorda blir kontinuerlig påvirket av frost, varme, vind, vegetasjon, og jordmikroflora og jordfauna. Påvirkningen fra overflaten fører til differensiering i mer eller mindre bestemte lag fra jordens overflate ned til det opprinnelig upåvirkete materiale. Mesteparten av jorda, unntatt myrjord, inneholder **uorganisk materiale** (kvarts (silisiumdioksid), leirmineraler (aluminiumsilikater), glimmermineraler, feltspat, og kalk (kalsiumkarbonat/kalsitt)). Jorda uorganiske fraksjon dannes ved forvitring av primære geologiske utgangsmaterialer. Leire-humuskomplekser er små parikler som er kolloidale. Kalsium har betydningen for aggregering av de kolloidale partiklene og gir bedre jordstruktur. Den **organiske fasen** av jorda består av planterøtter, sopp, mikroorganismer og små dyr (meitemark, midd, collemboler). Spesielt planterøtter og strøfall bringer mye organisk materiale til jorda. **Humus** er mørkefarget organisk materiale, men hvor man ikke lenger kan se de opprinnelige strukturene. Humus kan i tillegg til å være et lager for plantenæringsstoffer, også binde vann og bedre egenskapene i jorda ved å gjøre den mer porøs. Leire og humus inngår i komplekser. Humus er negativt ladet og binder kationer. Jorden har mer eller mindre stor evne til

**kationbyttning.** I hvilken grad utbyttingssetene er okkupert av kationer av baser , basemetningen, gir et mål på utvaskingen. Jern er nesten alltid tilsted og oksidasjon av jern gir ofte jorden en brun eller rød farge. Lukten av jord skyldes bl.a. geosmin produsert av aktinomyceter. Nitrogen kommer fra nedbrutt organisk materiale, nedfall med nedbøren eller ved biologisk nitrogenfiksering.  $H^+$  kommer fra karbonsyre i vann eller fra organiske syrer i humus og annet organisk materiale. Opptak av ammonium surgjør jorda. Selv om en jord har sur reaksjon er den ikke nødvendigvis dårlig med lavt innhold av basekationer. Ved pH 3-4 er det som regel lav basemetning og bare spesielle calcifuge arter trives som røsslyng (*Calluna vulgaris*), smyle (*Deschampsia flexuosa*) og finnskjegge (*Nardus stricta*). Ved mekanisk analyse kan de forskjellige fraksjoner og bestanddeler av jorda bestemmes. Høy basemetning, moderat med nedbør, moderat høy temperatur og nok oksygen gir gode forhold for nitrifiserende bakterier og meitemark. Humus dannes i store mengder pga rik plantevekst og blir omsatt til mold. Den andre ytterlighet er mor hvor organisk materiale akkumuleres. **Mor** er en betegnelse på lite nedbrutte planterester som ligger over A-laget. Mold er mer omdannet organisk materiale iblandet A-laget. En sur jord oppstår på stedet hvor jorden er dannet fra fjell med mye silikater og lite baser og i kalde og fuktige områder hvor nedbøren gir utvasking av overflatelagene. Strøet hopper seg opp siden det er få organismer bortsett fra sopp som bryter ned det tungt nedbrytbare strøfallet. Vannet i jorda er bundet i porer (**porevann**) i jordas strukturer. I luftrom i jorda finnes oksygen, men også høye konsentrasjoner av karbondioksid, spesielt når mikroorganismene har høy metabolismeaktivitet. Vannmettet jord inneholder lite oksygen, siden gasstransporten skjer sakte i væskefase (Ficks 2. lov). Hvis jorda mangler oksygen blir brunfarget  $Fe^{3+}$  redusert til  $Fe^{2+}$ , og  $Mn^{4+}$  blir redusert til  $Mn^{2+}$ . Både  $Fe^{2+}$  og  $Mn^{2+}$  er lett løselig i vann og kan forflyttes til områder med oksygen hvor de blir utfelt. Semiterrestrisk jord som er kontinuerlig oversvømt eller grunnvannspåvirket kalles **gley** (ty. *klei* - slam) og inneholder blågrønne salter av  $Fe^{2+}$  og svart utfelling av jernsulfid. I myr kan det skje utfelling av jernmalm (myrmalm). Dansken P.E. Müller oppdaget på 1800-tallet at jordbunnen under eiketrær (brunjord) utviklet seg forskjellig sammenlignet med jorda under grantrær (podsoljord). Løvtrærne tar opp mye næring og produserer lett nedbrytbare næringsrikt løvfall om høsten. F.eks. ask (*Fraxinus excelsior*) og lind (*Tilia cordata*). Gran (*Picea abies*) lager lite næringsrikt og tungt nedbrytbart strøfall med høyt innhold av organiske syrer fra nedbrytningen. **Brunjord** har høy basemetning, stort innhold av nitrater og det dannes mold. Hele profilet er som regel noe surt med en gradient med minskende surhet og økende baseinnhold nedover i profilet. A laget inneholder finfordelt moldd bladnet med mineraler , vel gjennomluftet med en rik mikroflora og fauna. B-laget er ikke skarpt avgrenset og går gradvis over i det opphavelige mineralet (C-laget). Det er ikke bare vannbevegelser nedover i profilet, men også oppover i varmt vær. **Podsoljord** som er vanlig i barskog, får man hvis vannstrømmen nedover er større enn oppover. I denne jorden har man et meget surt tykt lag med råhumus på toppen kalt  $A_0$  siden den er et tillegg over minderaljorda. Så følger utvaskingslaget A med lite baser og har grå eller hvit farge Posol er et russisk ord som betyr "under aske", fra den bleke askefargen man ofte finnes i jordprofilet. Vann vasker ned fine partikler fra overflaten til lavere lag. Vannet løser opp løselige salter og bringer ioner nedover i profilet hvor saltene blir utfelt. Noen ganger kan utvaskingslaget være brunfarget av humussubstanser som er

vasket nedover i profilet. Ufellinglaget er delt i to i en humus-jernpodsol. Øverst et lag hvor humus er utfelt, og et lag hvor jernsalter akkumulerer. Disse lagene kan være sementert hardt sammen slik at røttene ikke klarer å trenge gjennom dem. Røtter fra trær går ned i utfellingssjiktet som inneholder mest næring.

Utvasking av bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) betyr at karbondioksid som kommer inn i økosystemet forlater det som anion. Det må følges av et kation som erstatter protonet ved dissosiasjon av  $\text{H}_2\text{CO}_3$  ?

Kristiansen, S.M. & Dalsgaard, K.: Jordbunden. Natur og Museum 4 (2001).

“På Vestlandet er gran et sjeldent tre” het det omkring år 1900. Dette gjelder ikke i dag.

## Økologiske målinger

Evaporimeter måler fordampning av vann fra en åpen overflate.

Den største feilkilden ved en nedbørsamler er turbulens rundt åpningen. Noe av nedbøren treffer vegetasjonen og drypper som “gjennomfall” fra blader og ned langs stammer og greiner (stammeavrenning) og noe fordampes fra vegetasjonen før det har nådd bakken.

$$\text{relativ fuktighet (RH)} = \frac{e_a}{e_s} \cdot 100 \text{ (\%)}$$

Luftfuktigheten berører direkte transpirasjonen. Assmannpsykrometer er et motordrevet luftsirkulasjonssystem basert på et fuktig og et tørt termometer. Relativ fuktighet er % vannmengde i lufta relativt til mengden vann som trengs for å mette lufta ved den samme temperaturen.

$e_a$  er det aktuelle vanndamptrykket og  $e_s$  er metningsvanndamptrykket. Vanndamp har som andre gasser et vanndamptrykk.

Kapasiteten lufta har til å holde på vanndamp øker med økende temperatur og et mer nyttig begrep er **vanndamptrykkdeficitt** (VPD) =  $e_s - e_a$  målt i enheten kilopascal, det vil si forskjellen i metningsvanndamptrykk og det aktuelle vanndamptrykk. Fuktig termometeretemperaturen er den temperaturen et fuktig termometer får når det kjøles det ved fordampning i en luftstrøm som passerer.

$$e_a = e_s \gamma (T_t - T_v)$$

$T_t$  - tørr termometeretemperaturen,  $T_v$  - vått termometeretemperaturen.  $\gamma$  er psykrometerkonstanten som ved 0.1 MPa og 20°C er lik 0.66 kPa/K.

Duggpunkttemperaturen er den temperaturen hvor vanndamptrykket er lik metningstrykket. Transpirasjonen er avhengig av fuktighetsgradienten mellom den ytre omkringliggende luft og fordampningsstedet.

*Tung tok stormen i gamle trær,  
vinteren red over sletten;  
ute stod bondens korn, og kulden  
brøt det skjelvende ned.  
Granen føk full. Men bjerken  
ristede redd hver sneflokk av.  
Alle de lave busker  
bøyes ned og frøs.  
Fra Bjørnstjerne Bjørnson Arnljot Gelline*

## Litteratur

Arteca, R.N.: *Plant growth substances*, Chapman & Hall 1996.

Buchanan, B.B., Gruissem, W. & Jones, R.L.: *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of plant physiologists 2000.

Foyer, C.H.: *Photosynthesis*. John Wiley & Sons 1984.

Lid: *Norsk Flora*. Det Norske Samlaget 1994.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. & Stevens, P.F.: *Plant Systematics*. Sinauer Associates, Inc. 1999.

Marschner, Horst: *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press 1995

Mohr, H. & Schopfer, P.: *Plant Physiology*. Springer Verlag 1995.

Taiz, L. & Zeiger, T.: *Plant physiology*. Sinauer Associates Inc. Publishers 2002.  
Wilkins, M.: *Plantwatching*. Facton On File Publications 1988.

## Takk

Takk til alle mine lærere i plantefysiologi som ga inspirasjon og glede i et spennende fag. Amanuensis Knut Frog Ødegaard, universitetslektor Bjørn Steinar Gjønnnes, universitetslektor Julie Kjennerud, professor Per Halldal, og professor Sven Erik Rognes.

NB ! Dette er et meget uferdig utkast, som jeg lurer på om jeg noen gang blir ferdig med, men hvis noen kan ha nytte av det slik som det er, ja vel.