

O MECHANIZMIE PRZEKAZYWANIA FOTORECEPCJI ŚWIATŁA NIEBIESKIEGO I NADFIOLETOWEGO W ORGANIZMIE ROŚLINNYM

On mechanism of the photoreception of the blue and ultraviolet light in the plant organism.

Stefan GUMIŃSKI

Summary. Results concerning the effect of blue and ultraviolet light on some morphogenetic and biochemical processes, particularly on phosphorylation, protein transmitters efficiency and gene expression are presented in this paper.

Key words: blue light, ultraviolet light, plant morphogenesis, plant metabolic processes, signal transmission of photoreception

Prof. dr Stefan Gumiński, Instytut Botaniki, Uniwersytet Wrocławski, ul. Kanonia 6/8, 50-328 Wrocław

W ostatnich latach, już po ukazaniu się mego artykułu w *Wiadomościach Botanicznych* [4], wykonano wiele prac dotyczących odbioru i przekazywania bodźców wywoływanych w roślinach światłem niebieskim i ultrafioletowym. Wiadomości na ten temat zebrane zostały w pracy przeglądowej Shorta i Briggsa, która ukazała się w 1994 roku w *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* [18].

W cytowanym powyżej artykule [18] omawianych jest kilka problemów związanych z mechanizmem wpływu światła ultrafioletowego i niebieskiego na rośliny. Poniżej przedstawiono ich skrót.

FOSFORYLACJE

U grochu i kukurydzy światło niebieskie hamuje, podczas gdy białe stymuluje, proces fosforylacji białek. Okazało się, że istnieje pozytywna korelacja pomiędzy działaniem światła na fosforylację białek i fototropizmem. W przypadku grochu, kukurydzy, słonecznika i sorgo wy-

kazano, że fototropizm jest zależny od tej fosforylacji [18]. Predyspozycja do fosforylacji wywołanej naświetlaniem ujawnia się w okresie ciemności i utrzymuje się nawet po zamrożeniu tkanek. Światło raczej podwyższa aktywność odpowiednich kinaz niż wpływa na tworzenie substratu fosforylacji. W badaniach nad fosforylacją dokonywaną *in vitro* materiałem był groch, kukurydza i rzodkiewnik (*Arabidopsis thaliana*). Przy pomocy kilkukrotnego zamrażania i odmrażania stwierdzono, że fosforylacja wrażliwa na światło zachodzi na wewnętrznej stronie błon plazmatycznych. Ponadto wykazano, że fosforylacji podlegają głównie reszty serynowe badanych białek [18].

CYTOCHROMY

W badaniach wykonywanych na różnych gatunkach grzybów stwierdzono, że światło niebieskie powoduje zmniejszanie zawartości cytochromów *b*, co zbiega się ze zubożeniem zawartości flawin. Podobnie badania przeprowadzone

na frakcjach błon cytoplazmatycznych koleop-tyli kukurydzy ujawniły wpływ podobnego typu działania światła niebieskiego na kompleksy cytochromów z flawinami. Tak u grzybów, jak i u kukurydzy, fotoreceptorem światła niebieskiego była prawdopodobnie flawina. Tego rodzaju efekty w stosunku do cytochromów udało się osiągnąć również pod wpływem światła czerwonego, ale jedynie w obecności błękitu metylenowego. W środowisku pozbawionym tego barwnika opisywane reakcje cytochromów i flawiny obserwowano jedynie pod wpływem światła niebieskiego i ultrafioletu (o stosunku długiej fali UV-A)[18].

BIAŁKA PRZEKAZNIKOWE

Ogólnie wiadomo, że białka wiążące guanozynotrójfosforany (GTP) pełnią ważną rolę w przekazywaniu bodźców odbieranych przez organizmy. Aktywność białek wzrasta silnie po naświetleniu roślin przez światło niebieskie. Wydaje się, że w tych białkach sygnały nadawane światłem niebieskim odbierane są przez polipeptydy o ciężarze 30 lub 40 kDa [18].

FOTORECEPTORY

Jak dotąd nie udało się w pełni zidentyfikować chemicznej natury fotoreceptora ultrafioletu. Przepuszcza się, że jest nim flawina lub flawoproteina. Pod uwagę bierze się również karotenoidy. Stwierdzono, że reakcje na światło niebieskie i nadfiolet zachodzą u bardzo wielu organizmów. Wydaje się, że poszczególne reakcje na działanie światła o fali krótkiej są powodowane poprzez fotoreceptory dosyć zróżnicowane nawet w tym samym organizmie. W szczególności odnosi się to do fototropizmu i hamowania wzrostu. Jest rzeczą zastanawiającą, że wpływ światła na fototropizm i wzrost roślin jest różny, chociaż fototropizm polega na zjawiskach wzrostowych. Ponadto badania wykonane na *Sorghum bicolor* wykazały, iż fototropowe wygięcia były powodowane przez ultrafiolet o długości fali od 308 do 417 nm oraz przez światło czerwone, natomiast skręcanie pędu wyłącznie przez fale o długości od 257 do 302 nm [18].

Dociekania biochemiczno-genetyczne ujawniły, że gen określony jako *HY4* koduje białko charakterystyczne dla fotoreceptora światła niebieskiego – kryptochrom [20]. Reakcje fotomorfogenetyczne, wywołane przez pochłanianie światła niebieskiego przez zawierający flawiny kryptochrom, wymagają dokładnej analizy sposobu działania na poziomie genów [18].

Poniżej omówione zostaną wyniki badań opublikowanych po ukazaniu się wyżej omówionej pracy Shorta i Briggsa [18]. Tematykę tych badań można podzielić na kilka grup.

GENY

Jackson i Jenkins [6] stosując porównanie pomiędzy reakcją na światło niebieskie u formy dzikiej i mutantu *HY4* rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*) wykazali, że mutant w przeciwieństwie do roślin typu dzikiego nie reaguje na światło niebieskie inhibicją wzrostu hypokotyli. Okazało się, że mutacja genu *HY4* wpływa na biosyntezę antocyjanin i odpowiednich flawonoidów [6].

Doświadczenia wykonane przez Learneda [10] na siewkach i roślinach *Arabidopsis thaliana* wykazały, że światło niebieskie, i w mniejszej mierze czerwone (ale nie daleka czerwień), obniża ekspresję genu *HMG 1* kodującego reduktazę 3-hydroksy-3 metylo-glutarylo koenzymu A. W tym zjawisku prawdopodobnie biorą udział różne fotoreceptory, a odbywa się ono na poziomie transkrypcji [10].

Badania przeprowadzone przez Mattersa i Benale [14] na kulturach synchronizowanych długością okresu świetlnego i ciemności u *Chlamydomonas reinhardtii* ujawniły, że światło niebieskie wpływa na ekspresję genów uczestniczących w wytwarzaniu wczesnych prekursorów biosyntezy chlorofilu. Fotoreceptorem tego światła okazały się związki zawierające karotenoidy [14].

Według Sawbridge'a i innych [17] światło niebieskie przyspiesza ekspresję transkrypcji genów kodujących karboksylazę/oksygenazę rybulozobisfosforanu (Rubisco) w pierwszych liściach fasoli. Światło czerwone nie wpływa na ten proces.

ENZYMATYKA I POBIERANIE JONÓW MINERALNYCH

Petersen-Mahrt i inni [15] badali wpływ naświetlania nadfioletem izolowanych błon cytoplazmatycznych *Euglena gracilis*. W szczególności analizowano aktywność K^+ i Mg^{2+} -ATP-azy oraz cyklazy adenylowej. Obydwa te enzymy wykazywały zmniejszanie aktywności pod wpływem naświetlania promieniami UV-B o około 30 do 50 %. Natomiast niedostatek azotu w pożywce nie tylko redukował aktywność wspomnianej ATP-azy lecz także podwyższał aktywność 5-nukleotydazy i cyklazy adenylowej. Różnice w działaniu głodzenia azotem i naświetlania nadfioletem tłumaczono zróżnicowanym wpływem obu czynników na syntezę polipeptydów o ciężarze 30 i 39 kDa [15].

Kamiya [8] hodował bezzieleniowego mutantu *Chlorella keslerii* w ciemności na pożywce z glukozą i azotanami lub solami amonowymi. Glon ten lepiej pobierał jony amonowe niż azotanowe. Natomiast po naświetleniu promieniami niebieskimi przyhamowane zostało pobieranie jonów amonowych, a pobieranie azotanów wzrastało. Z drugiej strony naświetlanie czerwienią lub daleką czerwienią nie powodowało takiego zjawiska. Inhibicja pobierania jonów amonowych zanikała przy równoczesnej obecności azotanów. Kompensacja w pobieraniu jonów amonowych była związana z wydzielaniem jonów potasu, co powodowało następnie uwalnianie protonów. Ostatni z wymienionych procesów był silnie ograniczany przez światło niebieskie. Na podstawie przedstawionych wyników Kamiya [8] uważa, że światło powoduje aktywację reduktazy azotanowej.

Również Stöhr i wsp. [19] stwierdzili, że światło niebieskie stymuluje pobieranie azotanów przez zielenicę *Chlorella saccharophila*. Po zastosowaniu różnych inhibitorów autorzy doszli do przekonania, że prawdopodobnie receptorem światła niebieskiego jest związana z błoną cytoplazmatyczną reduktaza azotanowa. Jak wiadomo enzym ten zawiera flawinę i pterynę, to jest związki, które stanowić mogą grupy chromoforowe fotoreceptora światła niebieskiego – kryptochromu [20].

Wilson i inni [21] dociekali podstaw inaktywacji fotosyntezy przez UV-B (290–320 nm). W doświadczeniach przeprowadzonych na różnych gatunkach roślin wykryto powstawanie nowego białka o ciężarze 66 kDa. Okazało się, że wpływ ten dotyczy wytwarzania holoenzymu Rubisco, gdyż w mutancie tytoniu syntetyzującego podjednostki Rubisco, lecz niezdolnym do syntezy holoenzymu, nie stwierdzono pojawiania się białka o ciężarze 66 kDa pod wpływem naświetlania nadfioletem B.

Barnes i inni [1] przebadali wpływ UV-B na zwilżalność liści, biosyntezę wosków oraz na zjawiska wzrostowe epidermy u dwóch linii genetycznych tytoniu. Autorzy stwierdzili, że u genotypu bardziej wrażliwego na UV-B skutki naświetlania powodowały zmniejszanie ilości wosków kutikuli, czemu towarzyszyło powiększanie suchej masy i zmiany w morfologii liści, a w obu typach zmiany w chemicznym składzie wosków. UV-B zwiększało rozgałęzienia łańcuchów i skrócenie czasu syntezy krótszych łańcuchów kwasów tłuszczowych wosków. W ogólności zmiany te były większe w górnej stronie (adaksjalnej) powierzchni liści niż na stronie dolnej (abaksjalnej). UV-B redukowało gęstość występowania włosków na stronie górnej i wzmacniało ją na stronie dolnej. Zmiany w składzie chemicznym wosków powodowane przez UV-B występowały wraz z większą zwilżalnością liści, zwłaszcza po stronie górnej [1].

FOTOTROPIZM

Martin-Rojas i inni [13] zajęli się zjawiskiem tropizmu wywołanego przez ultrafiolet na grzyba *Phycomyces blakesleanus* [13]. Badacze ci stwierdzili, że sporangiofory tego grzyba zwracają się ku światłu niebieskiemu i odwracają się od nadfioletowego (poniżej 310 nm). Użytkano mutanty, które reagowały pozytywnie na światło niebieskie i nie reagowały na ultrafiolet. Tak naturalny szczep, jak i mutant pochłaniały w tej samej ilości nadfiolet przez kwas galusowy. Autorzy sądzą, że *Phycomyces blakesleanus* wyposażony jest w oddzielny system czuły na nadfiolet, a niewrażliwy na światło niebieskie. U wspomnianego grzyba funkcjonować mogą

dwa układy fotoreceptorów: jeden odpowiedni dla absorpcji światła niebieskiego i drugi specyficzny dla ultrafioletu. Nie udało się poznać umiejscowienia tego drugiego układu [13].

Iseki i inni [5] przeprowadzili doświadczenia na plesze morskiej zielenicy *Bryopsis plumosa*, poddając ją różnemu naświetlaniu. Plecha ta wydłużała się bardziej w cieniu niż na świetle. Naświetlanie powodowało jednak pozytywny fototropizm, przy czym szczególnie skuteczne było światło niebieskie o długości fali poniżej 550 nm, a najbardziej o długości fali 467 nm. Fototropizm ryzoidów miał charakter negatywny [5].

PORÓWNANIE EFEKTÓW FIZJOLOGICZNYCH RÓŻNYCH DŁUGOŚCI ŚWIATŁA

Eskins i inni [3] badali wpływ światła białego, czerwonego, dalekiej czerwieni i niebieskiego na wzrost, kształt, suchą masę oraz na wartości smakowe siewek sałaty (*Lactuca sativa*). Stwierdzono, że powierzchnia i sucha masa pierwszego liścia była najwyższa przy świetle niebieskim, a najniższa przy naświetlaniu czerwienią, a następnie daleką czerwienią. Co do smaku, to w pierwszych dniach najbardziej gorzkie były liście naświetlane barwą niebieską, lecz z biegiem czasu smak ten jeszcze się wzmacniał przy świetle białym. Najmniej gorzkie były liście sałaty naświetlane czerwienią [4].

Rudat i Göring [16] naświetlali porównawczo kultury komórek *Chenopodium album* światłem białym, niebieskim i czerwonym oraz przeprowadzali hodowle w ciemności. Czerwono-fioletowe betacyjaniny tworzyły się tylko pod wpływem światła nadfioletowego lub zawierającego nadfiolet. Betacyjaniny wytwarzane pod wpływem UV rozkładały się po przeniesieniu kultur na światło czerwone lub do ciemności. Kinetyna pobudzała wytwarzanie betacyjanin przy świetle białym, ale nie była skuteczna w ciemności. 2,4-D inhibował zawsze syntezę betacyjanin. Szczep zabarwiony żółto był niezdolny do wytwarzania betacyjanin pod wpływem UV i kinetyny [16].

Kagawa i Wada [7] zajmowali się wpływem światła czerwonego i niebieskiego na ruch chlo-

roplastów u paproci *Adiantum*. Chloroplasty w komórkach zaadaptowanych do ciemności, ustawione wzdłuż antyklinalnych ścian komórek, po naświetleniu bardzo wąskim pasmem promieni czerwonych lub niebieskich dążyły do źródła światła. Stwierdzono istnienie interakcji pomiędzy absorpcją światła przez fitochrom i fotoreceptor światła niebieskiego (kryptochrom?).

Bukhow i inni [2] w badaniach wykonanych na liściach jęczmienia naświetlanych światłem niebieskim lub czerwonym stwierdzili, że pod wpływem światła niebieskiego następowała szybsza synteza ATP i ADP niż przy świetle czerwonym. Autorzy przedstawionej pracy uważają, że fotoakceptorem światła niebieskiego był kryptochrom, czerwonego zaś fitochrom [2].

OCHRONA PRZED SZKODLIWYM DZIAŁANIEM ULTRAFIOLETU

Lois i Buchanan [12] badali wrażliwość na ultrafiolet mutantu *Arabidopsis*, u którego nie zachodzi akumulacja flawonoidów. Okazało się, że mutant ten ginie pod wpływem ultrafioletu, podczas gdy okazy normalne wytwarzają kamferol będący pochodną flawonolu połączonego glukozydowo z ramnozą. Barwnik ten chroni przed destrukcyjnym działaniem UV, a jego brak powoduje uszkodzenia ultrafioletem [12].

Yalpani i inni [22] porównywali działanie nadfioletu i ozonu i stwierdzili, że tak pod wpływem naświetlania ultrafioletem, jak i pod wpływem traktowania ozonem wzrasta synteza kwasu salicylowego, zupełnie podobnie jak przy zakażeniu tytoniu wirusem mozaiki. Wzrasta też ilość białka wiążanego przez patogen. W rezultacie rośnie też odporność na chorobę.

W badaniach nad wpływem ultrafioletu na siewki *Arabidopsis thaliana* Lois [11] wykazał, że światło to silnie uszkadza najmłodsze liście i powoduje w nich akumulację flawonoidów, które następnie chronią roślinę przed uszkodzeniami. Akumulacja tych związków odbywa się tylko w liściach naświetlanych ultrafioletem [11].

Landry i inni [9] prowadząc doświadczenia na roślinach typu dzikiego i mutancie *Arabidopsis thaliana* niezdolnym do wytwarzania odp-

wiednich substancji fenolowych wykazali, że związki hydroksycynamonowe bardziej niż flawonole chronią roślinę przed ultrafioletem. Uszkodzenia powodowały stresy oksydacyjne [9].

LITERATURA

- [1] BARNES J. D., PEREY K. E., PAUL N. D., JONES P., MCLAUGHLIN C. K., MULLINEUX P. M., CREISSEN G., WELBURN A. R. 1996. The influence of UV-B radiation on the physico-chemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaf surfaces. *J. Exp. Bot.* **47**: 99–109.
- [2] BUKHOW N. G., BONDER W. W., DROZDOWA I. S. 1995. Longterm effects of blue or red light on ATP and ADP contents in primary barley leaves. *Planta* **196**: 211–216.
- [3] ESKINS K., WARNER K., FELCKER F. G. 1996. Light quality during early seedling development influences the morphology and bitterness intensity of mature lettuce (*Lactuca sativa*) leaves. *J. Plant Physiol.* **147**: 709–713.
- [4] GUMIŃSKI S. 1990. O wpływie światła niebieskiego i nadfioletowego na zjawiska morfogeniczne i niektóre metaboliczne u roślin. *Wiad. Bot.* **34**: 5–13.
- [5] ISEKI M., MIZUKUNI M., WADA S. 1995. Positive phototropism in the thallus of *Bryopsis plumosa*. *Plant Cell Physiol.* **36**: 971–976.
- [6] JACKSON J. A., JENKINS G. I. 1995. Extension growth responses and expression flavonoid biosynthesis genes in the *Arabidopsis* by *HY-4* mutant. *Planta* **197**: 223–239.
- [7] KAGAWA T., WADA M. 1996. Phytochrom – and blue-light absorbing pigment mediated directional movements of chloroplasts in dark-adapted prothallial cells of fern *Adiantum* as analyzed by microbeam irradiation. *Planta* **198**: 488–493.
- [8] KAMIYA A. 1995. Effects of blue light on the uptake of ammonium and nitrate by a colourless mutant of *Chlorella*. *Plant Cell Physiol.* **36**: 481–485.
- [9] LANDRY L. G., CHAPPLE C. S., LAST R. L. 1995. *Arabidopsis* mutant lacking phenolic sunscreen exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiol.* **109**: 1159–1166.
- [10] LEARNED R. M. 1996. Light suppresses 3-hydroxy-3-methylglutaryl Co A-reductase gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* **110**: 645–655.
- [11] LOIS R. 1994. Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. *Planta* **194**: 498–503.
- [12] LOIS R., BUCHANAN B. B. 1994. Severe sensitivity to ultraviolet radiation in *Arabidopsis* mutant deficient in flavonoid accumulation. *Planta* **194**: 504–509.
- [13] MARTIN-ROJAS W., GRAINER H., WAGNER T., FUKSHANSKY L., CERDA-OMEDO E. 1955. Specific tropism caused by ultraviolet C radiation in *Phycomyces*. *Planta* **197**: 63–68.
- [14] MATTERS G. L., BEALE S. 1995. Blue-light-regulated expression genes for two early steps of chlorophyll biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* **109**: 471–479.
- [15] PETERSEN-MARHRT S. K., EKELEND N. G.A., WIDELL S. 1995. Effects of UV-B radiation and nitrogen starvation on enzyme activities in isolated plasma membranes of *Euglena gracilis*. *Physiol. Plant.* **95**: 515–522.
- [16] RUDAT A., GÖRING H. 1955. Induction of betacyanin formation in cell cultures of *Chenopodium album* under UV-light irradiation. *J. Exp. Bot.* **46**: 129–134.
- [17] SAWBRIDGE T. J., LOPEZ-JUEZ E., KNIGHT M. R., JENKINS G. J. 1994. A blue-light photoreceptor mediates the fluence-rate-dependent expression of genes encoding the small subunit of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in light-grown *Phaseolus* leaves. *Planta* **192**: 1–8.
- [18] SHORT T. W., BRIGGS W. R. 1994. The transduction of blue light signals in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **45**: 143–171.
- [19] STÖHR CH., GLOGAU U., MÄTSCKE M., TISCHNER R. 1955. Evidence for the involvement of plasma-membrane bound nitrate reductase in signal transduction during blue-light stimulation of nitrate uptake in *Chlorella saccharophila*. *Planta* **197**: 613–618.
- [20] TRETYN A., KOPCEWICZ J. 1995. Fitochrom i kryptochrom: fotoreceptory kontrolujące morfogenezę roślin. *Zeszyty Naukowe Inst. Sadow. Kwiciar.* **2**: 91–99.
- [21] WILSON M. J., GHOSH S., GERHARDT K. E., HOLLAND N., BABU S., EDELMAN M., DUMBROFF E. B., GREENBERG B. M. 1995. *In vivo* photomodification of ribulose-1–5-bisphosphate carboxylase/oxygenase holoenzyme by ultraviolet-B radiation. *Plant Physiol.* **109**: 221–229.
- [22] YAPALMI N., ENGEDI J., LEÓN J., RASKIN I. 1994. Ultraviolet light and ozone stimulate accumulation of salicylic acid, pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Planta* **193**: 372–377.