

MUTANTY FOTOMORFOGENETYCZNE*

Photomorphogenic mutants

Agnieszka NOWAKOWSKA, Andrzej TRETYN

Summary. The phytochrome is the photoreceptor responsible for initiating many of the photomorphogenic events. The signal transduction pathways, leading from the perception of light to the modification of gene expression have been relatively unknown until recently, when several types of mutants have been introduced for studies on plant photomorphogenesis. So far a few types of phytochrome mutants have been characterised: between them mutants probably deficient in all types of phytochrome (so-called chromophore mutants), as well as labile (phyA) or stabile (phyB) phytochrome deficient mutants. Other type of photomorphogenic mutants exhibit exaggerated phytochrome responses. Recently mutants which possesses light-grown phenotypes in darkness were also identified.

Key words: phytochrome, photomorphogenic mutants, photomorphogenesis

Mgr Agnieszka Nowakowska, prof. dr hab. Andrzej Tretyn, Zakład Fizjologii i Morfogenezy Roślin, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Gagarina 9, 87–100 Toruń

WPŁYW ŚWIATŁA NA WZROST I ROZWÓJ ROŚLIN

Procesy wzrostu i rozwoju roślin zależne są od całego zespołu czynników zewnętrznych, takich jak światło, temperatura, woda, siła grawitacyjna, dotyk, czynniki edaficzne i bodźce chemiczne. Spośród nich szczególnie doniosłą rolę odgrywa światło, które działając poprzez barwniki fotosyntetyczne i inne wpływa na kształt procesów zachodzących wewnątrz komórek roślinnych [8, 31–32]. Niezależny od fotosyntezy wpływ światła na wzrost, rozwój i różnicowanie się roślin określa się terminem fotomorfogenezy [19]. Stymulowane światłem procesy fotomorfogenetyczne zachodzą podczas całego rozwoju ontogenetycznego rośliny i obejmują zmiany na poziomie organizmalnym, tkankowym, subkomórkowym i molekularnym.

Światło działając na roślinę poprzez regulację określonych genów jądrowych i chloroplastowych modyfikuje endogeny program rozwoju rośliny, wyrazem czego jest pojawienie się określonego jej fenotypu.

Jedynie promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie 320–800 nm indukuje u roślin specyficzne odpowiedzi morfogenetyczne. Tak szeroki zakres promieniowania pochłaniany jest przez kilka odmiennych typów fotoreceptorów mających zdolność do przekazywania energii lub niesionej przez światło informacji roślinie. Najlepiej poznany i scharakteryzowany receptorem jest fitochrom, kontrolujący reakcje indukowane przez światło czerwone (R)* i daleką czerwień (FR). Fitochrom wykazuje również zdolności do absorbowania i przekazywania informacji zawartych w świetle niebieskim i bliskim ultrafiolecie [40–41].

*Praca powstała w trakcie realizacji Grantu KBN 6–6068–92–03.

FITOCHROM

BIOCHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI FITOCHROMU

Fitochrom jest niebieskawą chromoproteiną, której łańcuch polipeptydowy połączony jest poprzez wiązanie kowalencyjne z otwartą, tetrapiolową grupą chromoforową. W zależności od gatunku rośliny masa niezdegradowanej cząsteczki tego barwnika waha się od 116 do 128 kD. Natywny fitochrom występuje w formie dimeru o masie cząsteczkowej ok. 253 kD [40].

Prekursorem syntezy grupy chromoforowej fitochromu jest kwas aminolewulinowy (ALA). Początkowe etapy tego procesu przebiegają podobnie do szlaku prowadzącego do powstawania fikobiliny (fotosyntetycznego barwnika niektórych glonów) oraz biliwerdyny (niebieskiego barwnika zwierząt). Powstały z ALA hem, na skutek oksydacyjnego otwarcia pierścienia porfirynowego, przekształca się w biliwerdynę IX- α , a następnie w fitochromobilinę, która przyłączana jest poprzez wiązanie tioeterowe do 321. aminokwasu (cysteiny) białkowej części fitochromu [40].

FIZYKOCHEMICZNA CHARAKTERYSTYKA FITOCHROMU

Fitochrom występuje w dwóch, spektralnie odmiennych, lecz wzajemnie fotoodwracalnych formach molekularnych: absorbującej światło czerwone, oznaczanej jako Pr oraz pochłaniającej daleką czerwień formie Pfr [14, 31, 40]. Naświetlając rośliny światłem czerwonym indukuje się fotokonwersję Pr do Pfr, i odwrotnie daleką czerwień przekształca Pfr do Pr. Powszechnie akceptuje się, że tylko Pfr jest fizjologicznie aktywną formą fitochromu [40]. Omawiany barwnik syntetyzowany jest u roślin wyrosłych w ciemności (tzw. etiolowanych) *de novo* i akumulowany w formie Pr. Zawartość tej formy barwnika gwałtownie spada przy pierwszym kontakcie rośliny ze światłem [14]. Jed-

nakże nawet w tkankach roślin rosnących na świetle obserwuje się obecność fitochromu, przy czym jego zawartość jest 20 razy niższa w porównaniu z roślinami etiolowanymi [31, 34, 40, 43]. Białkowy składnik stabilnego na świetle barwnika jest immunologicznie odmienny od białka fitochromowego akumulowanego w tkankach roślin rosnących w ciemności [43]. Na tej podstawie ustalono, że u roślin występują dwie populacje barwnika różniące się komponentą białkową. Stosując jako kryterium klasyfikacyjne tempo degradacji wyróżniono fitochrom labilny (oznaczany jako phyA) i fitochrom stabilny (nazywany phyB) [31–34]. Białkowe składniki obu tych form (oznaczane odpowiednio: PHYA, PHYB) kodowane są przez odmiennie geny; *PHYA* i *PHYB* [32, 40]. U niektórych roślin stwierdzono występowanie genów, kodujących dodatkowe formy fitochromu, np: geny *PHYB1*, *PHYB2*, *PHYX* i *PHYZ* u pomidora (*Lycopersicon esculentum*) [12] czy *PHYC*, *PHYD* i *PHYE* u rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) [8, 31–32, 37].

MUTANTY FOTOMORFOGENETYCZNE

Występowanie wielu form fitochromu znacznie utrudnia poznanie mechanizmów ich działania jako fotoreceptora, a w konsekwencji określenia wpływu światła na wzrost i rozwój roślin. Niezwykle cennych informacji na ten temat dostarczają naturalnie pojawiające się lub sztucznie wywoływane mutacje dotyczące genów, których produkty odpowiadają za przebieg kolejnych etapów szlaku syntezy białkowego lub chromoforowego składnika barwnika bądź kontrolujących procesy transdukcji sygnału świetlnego. W ostatnich latach mutanty fotomorfo-genetyczne stały się podstawowym „narzędziem” stosowanym przez badaczy pracujących nad zależną od światła morfogenezą roślin [43]. Ponieważ światło reguluje przebieg różnych faz

* Wykaz stosowanych skrótów: P – fitochrom, Pr – forma fitochromu absorbująca światło czerwone, Pfr – forma fitochromu absorbująca światło dalekiej czerwieni, R – światło czerwone, FR – światło dalekiej czerwieni, phyA – fitochrom labilny, phyB – fitochrom stabilny, EOD-FR (ang. *End-Of-Day-FR*) – końcowe naświetlanie światłem dalekiej czerwieni, B – światło niebieskie, WT (ang. *Wild Type*) – typ dziki, PHYA – białkowy składnik fitochromu labilnego, PHYB – białkowy składnik fitochromu stabilnego.

ontogenezy rośliny, efekty fenotypowe mutacji mogą ujawniać się już podczas kiełkowania nasion, w czasie wzrostu elongacyjnego łodygi, różnicowania się zawiązków liści i innych organów wegetatywnych, a także podczas różnych etapów fazy generatywnej (produkcji kwiatów, nasion i owoców). Obserwacja zmian fenotypowych mutantów, poparta analizami molekularnymi umożliwia chromosomową lokalizację mutacji (ich zmapowanie) i określenie jej wpływu na wzrost i rozwój badanych roślin. Selekcji mutantów dokonuje się zarówno wśród roślin etiolowanych, jak i rosnących na świetle. Rosnące w ciemności (etiolowane) siewki roślin dwuliściennych mają wydłużone hypocotyle, zwinięte liścienie, słabo rozwinięte chloroplasty (etioplasty), a poziom ekspresji genów jądrowych kodujących białka chloroplastowe (takich jak: białko wiążące chlorofil a/b – LHCP; małą podjednostkę karboksylazy rybulozobisfosforanowej – RBCS; syntazę chalkonową – CHS) jest

bardzo niski [42, 44]. Natomiast rośliny poddane działaniu światła ciągłego charakteryzują się krótkimi hypocotylami, dobrze rozwiniętymi liścieniami, a ekspresja genów kodujących białka: LHCP, RBCS, CHS ulega u nich prawie 100-krotnej stymulacji w porównaniu do roślin etiolowanych [23]. Mutanty fotomorfogenetyczne na skutek zakłóceń w prawidłowym funkcjonowaniu fotoreceptorów roślinnych nie wykształcają fenotypu charakterystycznego dla roślin typu dzikiego.

MUTANTY FITOCHROMOWE

Obecnie znane mutanty fitochromowe zaliczyć można do dwóch grup. Pierwsza z nich stanowi rośliny, u których mutacja prowadzi do zmian w budowie cząsteczek fotoreceptora lub jego nieobecności. Mutacje drugiego typu prowadzą do zakłóceń różnych elementów indukowanego przez światło i kontrolowanego przez

Tabela 1. Mutanty fotomorfogenetyczne u pomidora.

Table 1. Photomorphogenic mutants of tomato.

Genotyp <i>Genotype</i>	WT	<i>au</i>	<i>yg-2</i>	<i>fri</i>	<i>tri</i>	<i>hp-1</i>	<i>hp-2</i>
Numer chromosomu <i>Chromosome number</i>		1	12	10	1	?	?
Inhibicja wzrostu hypokotyła <i>Hypocotyl growth inhibition by</i>							
R	+	–	–	+	–/+	+	+
FR	+	–	–	–	+	+	?
Dorosłe rośliny <i>Adult plants</i>							
chlorofil <i>chlorophyll</i>	+	+	+	+	+	+++	+++
EOD-FR <i>EOD-FR</i>	+	+	+	+	+	+	+
Typ mutacji <i>Mutations type</i>		Chr [–]	Chr [–]	phyA [–]	phyB1 [–]	Resp ⁺	Resp ⁺

Oznaczenia: Chr[–] – mutacje dotyczące grupy chromoforowej fitochromu, phyA[–], phyB[–], phyB1[–] – mutacje dotyczące białkowego składnika fitochromu, „?” – nie określono.

Marks: WT – wild type; EOD-FR – end-of-day FR response; FR – far red; R – red; Chr[–] – mutation affecting chromophore biosynthesis; Resp⁺ – photomorphogenic responses amplification.

Tabela 2. Mutanty fitochromowe o obniżonej wrażliwości na światło czerwone.

Table 2. Phytochrome mutants with decreased sensitivity to red light.

Roślina <i>Species</i>	Mutanty <i>Mutant</i>	Fenotyp mutant <i>Mutant phenotype</i>	Typ mutacji <i>Mutations type</i>
MUTACJE DOTYCZĄCE FITOCHROMU LABILNEGO <i>LABILE PHYTOCHROME MUTATIONS</i>			
Rzodkiewnik pospolity (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	hyl	długi hypocotyl u siewek rosnących na świetle białym — <i>long hypocotyl in white light-grown seedlings</i> siewki o żółtozielonym zabarwieniu — <i>yellow-green seedlings</i> podwyższona dominacja wierzchołkowa — <i>enhanced apical dominancy</i> wcześniejsze zakwitanie — <i>earlier flowering</i> brak wrażliwości na EOD-FR — <i>insensitive to the EOD-FR treatments</i>	Chr ⁻
	hy2	podobny do hyl, ale bardziej zielony — <i>similar to the hyl, but more green</i>	Chr ⁻
	hy6	podobny do hyl, ale wykazuje wrażliwość na EOD-FR — <i>similar to the hyl, but responds to the EOD-FR</i>	Chr ⁻
	hy8	długi hypocotyl u siewek rosnących w świetle dalekiej czerwieni — <i>long hypocotyl in seedlings grown under far red light</i>	phyA ⁻
Pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	au	długi hypocotyl u siewek rosnących na świetle białym siewki — <i>long hypocotyl in seedlings grown under white light</i> o żółtozielonym zabarwieniu — <i>yellow-green seedlings</i> obniżona zawartość chlorofilu — <i>reduction in chlorophyll content</i> obniżona akumulacja PHYA — <i>reduced accumulation of PHYA</i>	Chr ⁻
	yg-2	podobny do au — <i>similar to the au</i>	Chr ⁻
	fri	długi hypocotyl u siewek rosnących na świetle czerwonym lub niebieskim — <i>long hypocotyl in seedlings grown under red or blue light</i> obniżona wrażliwość na FR — <i>decreased sensitivity to FR</i>	phyA ⁻
MUTACJE DOTYCZĄCE FITOCHROMU STABILNEGO <i>STABLE PHYTOCHROME MUTATIONS</i>			
Rzodkiewnik (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	hy3	długi hypocotyl, ogonki liści, szypułki kwiatowe i komórki włosnikowe korzeni — <i>long hypocotyl, stems and root hairs cell</i> wcześniejsze zakwitanie — <i>advancement of flowering</i> siewki bladzielone — <i>pale-green seedlings</i> słabe kiełkowanie nasion — <i>low seed germination</i>	phyB ⁻
Ogórek (<i>Cucumis sativus</i>)	lh	długi hypocotyl u siewek rosnących na białym świetle — <i>long hypocotyl of the white light- grown seedling</i>	phyB ⁻
Groch (<i>Pisum sativum</i>)	lv	długie międzywęzła u roślin rosnących na świetle: białym, czerwonym i niebieskim — <i>elongated internodes in plants grown under: white, red and blue ligh</i> obniżona zawartość chlorofilu — <i>reduction in chlorophyll content</i>	?

Tabela 2. *cd.*Table 2. *cont.*

Roślina <i>Species</i>	Mutanty <i>Mutant</i>	Fenotyp mutant <i>Mutant phenotype</i>	Typ mutacji <i>Mutations type</i>
Kapusta (<i>Brassica rapa</i>)	<i>ein</i>	wydłużone międzywęzła, podwyższona ilość GA — <i>elongated internode</i> podwyższona ilość GA — <i>increased GA levels</i>	?
Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i>)	<i>ma</i> ^{3R}	wydłużony pęd — <i>elongated stem</i> , podwyższona ilość GA — <i>increased levels of GA</i> podwyższona zawartość giberelin — <i>increase in gibberellins levels</i>	?
Pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>tri</i>	długi hypokotyl u siewek rosnących na świetle R — <i>long hypokotyl in red light-grown seedlings</i>	phyB1 ⁻

Oznaczenia: WT – wild type (typ dziki); EOD-FR – end-of-day FR response; FR – far red (daleka czerwień); R – red (światło czerwone); Chr⁻ – mutacja w biosyntezie chromofora; Resp⁺ – amplifikacja odpowiedzi fotomorfogenetycznych.

Marks: Chr⁻ – phytochrome chromophore mutations; phyA⁻, phyB⁻, phyB1⁻ – phytochrome proteins mutations; „?” – unknown type of mutation.

fitochrom łańcucha transdukcji sygnału świetlnego [8, 15, 43]. Mutanty należące do pierwszej grupy zostały zidentyfikowane u takich roślin jak: rzodkiewnik, pomidor, ogórek, sorgo, kapusta, groch (Tab. 1 i 2). Charakteryzują się one brakiem lub obniżoną wrażliwością na działanie światła indukującego proces deetioloacji (zelenienia się) roślin. Rosnące w ciemności siewki tych mutantów nie różnią się pokrojem od etiolowanych siewek form dzikich (WT). Różnice między obu grupami wspomnianych roślin pojawiają się dopiero po przeniesieniu ich na światło. U mutantów nie obserwuje się hamującego wpływu światła na wzrost hypokotyła oraz znaczne obniżenie tempa syntezy chlorofilu i antocyjanów [8, 43]. Efektem istnienia tego typu defektu jest wyższy, niż u form dzikich, wzrost dorosłych mutantów, mniejsza ilość liści o obniżonej zawartości chlorofilu, podwyższona dominacja wierzchołkowa i przedwczesne zakwitanie [8, 14–15, 43]. Mutanty te stanowią najliczniejszą grupę dotychczas poznanych mutantów fitochromowych. Rozgranicza się wśród nich rośliny, u których mutacje dotyczą albo fitochromu labilnego (phyA), albo fitochromu stabilnego (phyB) [14–15, 43].

MUTACJE FITOCHROMU LABILNEGO (PHYA)

W grupie tej wyróżnia się mutanty: *hyl*, *hy2*, *hy6*, *hy8 Arabidopsis* [8, 10, 15, 35, 43] oraz *au* (od *aurea*) [1, 3, 16, 43], *yg-2* (od ang. *yellow-green-2*; żółtozielony) [16, 17, 18], *fri* (od ang. *far-red insensitive*; niewrażliwy na daleką czerwień) [16, 47] i *tri* (od ang. *temporarily red light insensitive*; przejściowo niewrażliwy na czerwień) [16, 48] u pomidora (Tab. 1–3).

Dotychczas najlepiej poznanym i scharakteryzowanym mutantem jest mutant *au* pomidora, odznaczający się wydłużonym hypokotylem i obecnością bladezielonych liści. Obniżona zawartość chlorofilu w deetiolowanych siewkach tego mutantu wynika z ograniczonej ekspresji genów kodujących białko wiążące chlorofil a/b fotosystemu I i II, plastocyaninę oraz niedorozwoju chloroplastów [1, 16, 21]. Dorosłe rośliny, zarówno typu dzikiego, jak i mutanty *au*, wykazują podobną wrażliwość na końcowodniowe naświetlanie światłem dalekiej czerwieni (EOD-FR), co mogłoby sugerować obecność funkcjonalnego fitochromu w deetiolowanych siewkach tego mutantu. Jednakże żółtozielony kolor liści rosnących na świetle mutantów i obniżona zdolność rejestracji niewielkich zmian we wzajem-

Tabela 3. Mutanty fitochromowe z zaburzeniami łańcucha transdukcji sygnału świetlnego

Table 3. Phytochrome mutants with abnormalities in light-induced signal transduction pathways

Roślina <i>Species</i>	Mutant <i>Mutant</i>	Fenotyp mutant <i>Mutant phenotype</i>
Rzodkiewnik pospolity (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	det1	niezależny od światła rozwój liści i różnicowanie chloroplastów — <i>light-independent development of cotyledons and chloroplast differentiation</i> ekspresja genów jądrowych w ciemności związanych z fotosyntezą — <i>expression of the genes involved in photosynthesis in darkness</i> chloroplasty w komórkach korzeni — <i>chloroplasts in root cells</i> obniżone tempo wzrostu hypocotyła — <i>lower hypocotyl growth rate</i> obniżona dominacja wierzchołkowa — <i>reduced apical dominance</i>
	det2	obniżone starzenie się liści i chloroplastów — <i>delayed senescence of leaves and chloroplasts</i> i unikalna ekspresja genów jądrowych w ciemności, normalnie inicjowana światłem — <i>unique gene expression in darkness, normally induced by the light</i> obniżone tempo wzrostu łodyg — <i>lower stem growth rate</i>
	det3	niezależny od światła rozwój liści — <i>light-independent leaves development</i> dziedziczenie dominacji apikalnej i tempa wydłużenia hypocotyła — <i>inheritance of apical dominance and hypocotyl elongation rate</i>
	det4	niezależny od światła rozwój liści i chloroplastów — <i>light-independent leaves and chloroplast development</i> podobny do det3 — <i>similar to the det3</i>
	cop1	rozwój liści i chloroplastów w etiolowanych siewkach — <i>leaves and chloroplast development in etiolated seedlings</i> obecność chloroplastów w korzeniach — <i>presence of chloroplasts in roots</i>
	cop2	niezależne od światła różnicowanie się liści — <i>light-independent cotyledon expansion</i> obniżenie tempa wzrostu łodyg — <i>decrease of stem growth rate</i>
	cop4	brak reakcji geotropicznych — <i>no geotropic reactions</i>
	cop9	hamowanie kwitnienia — <i>flowering inhibition</i> karłowacenie siewek — <i>dwarf seedlings</i>
Pomidor (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	hp	podwyższona inhibicja wzrostu elongacyjnego hypocotyła na świetle — <i>increased hypocotyl growth inhibition by light</i> podwyższona zawartość antocyjanin i chlorofilu, niedojrzałe owoce ciemnozielone — <i>increased anthocyanin and chlorophyll content dark-green immature fruits</i> dojrzałe owoce bardziej czerwone niż zwykle, produkowane wskutek podwyższonej zawartości likopenów i karotenoidów — <i>mature fruits more red than normally on account of increased levels</i>
Groch (<i>Pisum sativum</i>)	lip	obniżone tempo wzrostu epikotyła — <i>lower epicotyl growth rate</i> kilkudziesięcioprocentowy spadek zawartości fitochromu — <i>repeated inheritance of phytochrome content</i> rozwój liści i chloroplastów w etiolowanych siewkach — <i>leaves and chloroplast development in etiolated seedlings</i>
	lw	krótki epikotyl w świetle R i silna stymulacja wzrostu epikotyłu w odpowiedzi na EOD-FR — <i>short epicotyl under R light and strong stimulation of epicotyl growth in response to the EOD-FR treatments</i>

nym stosunku czerwieni do dalekiej czerwieni (R/FR) wskazują na istnienie u *au* zaburzeń w przebiegu procesu deetioloacji [16].

Poza obniżoną wrażliwością na światło czerwone, mutanty *aurea* charakteryzują się również niską czułością na działanie światła niebieskiego [16], co może sugerować współdziałanie fitochromu i receptorów światła niebieskiego (B) w indukcji fotomorfogenezy pomidora.

Mutacja *au* jest recesywna i została zlokalizowana w chromosomie 1 [18]. Spektrofotometrycznie wykazano, że w etiolowanych siewkach *au* występuje jedynie 5% zawartości fitochromu w porównaniu do roślin typu dzikiego. Natomiast w tkankach deetiolowanych roślin *au* odnotowano 60 procentowy spadek zawartości fitochromu w stosunku do WT [1, 21]. Doświadczenia przeprowadzone z użyciem przeciwciał skierowanych przeciw PHYA pochodzących z roślin jednoliściennych wykazały zupełny brak białkowego składnika omawianego barwnika w etiolowanych siewkach mutantu *au* [29]. Jednak zastosowanie przeciwciał, otrzymanych z roślin dwuliściennych umożliwiło wykrycie białkowej części fitochromu labilnego w siewkach mutantu *au*, w ilości stanowiącej 20% zawartości PHYA w tkankach roślin WT [36]. Fitochrom ten nie ulegał reakcjom charakterystycznym dla natywnej formy fotoreceptora: wykazywał stabilność w trakcie naświetlania światłem R oraz nie ulegał fotokonwersji i destrukcji [36]. Na tej postawie przypuszcza się, że u *au* fitochrom pozbawiony jest grupy chromoforowej. Zakładając, że wszystkie typy fitochromów posiadają identyczną grupę chromoforową można przypuszczać, że siewki *au* muszą zawierać zmienioną strukturę i zaburzone funkcjonowanie labilnej i stabilnej puli omawianego fotoreceptora. Przypuszczenie to zostało potwierdzone w wyniku skrzyżowania *au* z transgenicznym pomidorem (*PHYA3*), wykazującym nadekspresję genu fitochromowego wyizolowanego z owsa [4]. Otrzymane tą drogą rośliny (*au-PHYA3*) akumulowały apoproteinę PHYA3, jednak ich fenotyp znacznie odbiegał od siewek pomidora typu dzikiego. Ponadto ustalono, że mutacja *au* dotyczy genu zlokalizowanego w pierwszym, natomiast gen *PHYA* występuje w dziesiątym chromoso-

mie. Należy również nadmienić, że mutacja *yg-2* pomidora, wywołująca efekt fenotypowy podobny do mutacji *au*, posiada swoje *locus* w chromosomie 12. Na tej podstawie należy wykluczyć możliwość, że u wymienionych typów mutantów mutacja dotyczy białkowej części fitochromu [4, 23].

W celu poznania biochemicznej natury mutacji *au* należy stwierdzić, który z etapów szlaku syntezy grupy chromoforowej uległ zaburzeniom. Nieudane próby „odratowania” (ang. rescue) mutantu *au* poprzez egzogenne podawanie biliwerdyny IX- α (prekursora grupy chromoforowej) wskazuje, że omawiana mutacja może dotyczyć kolejnego etapu syntezy – zachodzącego już po powstaniu biliwerdyny [27]. Prawdopodobnie jest również istnienie nieznanego jeszcze mechanizmu kontrolującego biosyntezę chromoforu, o czym świadczy odmiennosc fenotypowa siewek WT, traktowanych gabakuliną – inhibitorem syntezy grupy tetrapiolowej (w tym również fitochromobiliny) [16]. Należy również uwzględnić fakt, że mutant *au* jest zdolny do fotosyntezy, a tym samym do syntezy cząsteczek chlorofilu, których prekursorem jest protoporfiryna, będąca jednym z prekursorów hemu. Biorąc pod uwagę wymienione fakty można przypuszczać, że mutacja *au* dotyczy etapów szlaku syntezy grupy chromoforowej zawartych pomiędzy hemem a fitochromobiliną [16].

Jak wspomniano powyżej, poza brakiem fizjologicznie aktywnej labilnej formy fitochromu (*phyA*), u mutantów *au* obniżona jest również zawartość apoproteiny PHYA. Spadek poziomu białkowego składnika fitochromu jest wynikiem epistatycznego charakteru mutacji *au* (podobnie jak i *yg-2*) w stosunku do genu *PHYA*. Dostępność grupy chromoforowej jest czynnikiem ograniczającym jedynie w warunkach, kiedy apoproteina PHY występuje w podwyższonych ilościach, tj. w etiolowanych siewkach pomidora. W deetiolowanych tkankach epistaza ta ma bardziej ograniczony charakter [14, 18].

Dosyć dobrze opisano mutacje dotyczące fitochromu labilnego u *Arabidopsis*, które oznaczono jako *hy* (od ang. *hypocotyl*; *hypokotyl*). Pierwszy fitochromowy mutant typu *hy* (który

wyglądem przypominał etiolowane siewki *Ara-bidopsis*) został wykryty w roku 1980 przez M. Koornneefa. [15]. Parks i Quail stosując metody spektrofotometryczne wykazali, że mutanty *hy8* nie posiadają phyA, natomiast zawartość phyB i phyC jest podobna jak u form dzikich [27–28]. Ponadto ustalono, że mutant *hy8* wykazuje wrażliwość na EOD-FR [28], charakterystyczną dla fitochromu stabilnego (phyB). U mutantów *hy1*, *hy2* poziom PHYA (białkowego składnika phyA) jest normalny [18], natomiast brak jest u nich fizjologicznie aktywnej labilnej i stabilnej formy fitochromu. Dotychczas nie został poznany mechanizm utraty biologicznej aktywności phyA u mutantów *hy1*, *hy2*. Parks i Quail [27–28] wykazali, że u *hy1* i *hy2* mutacja dotyczyć może któregoś z etapów biosyntezy grupy chromoforowej. Świadczyły o tym wyniki doświadczeń, w których wykazano, że egzogenne podawana biliwerdyna IX- α przywraca aktywność fizjologiczną fitochromu u wspomnianych mutantów. Poprzez supresję mutacji w loci *hy1* i *hy2* fitochrom wykazywał teraz właściwe sobie zdolności do fotokonwersji i destrukcji na świetle. Poza tym badania spektrofotometryczne i immunochemiczne wykazały obecność fitochromu phyA w ilościach charakterystycznych dla WT [27]. Należy dodać że mutacje w loci *hy1* i *hy2*, dotyczące szlaku syntezy chromoforu prowadzące również do zakłóceń w kontroli procesów regulowanych przez phyB (posiadającego identyczny składnik chromoforowy) [43]. Egzogenne podawanie biliwerdyny IX-a w przypadku mutantu *hy2* nie doprowadziło jednak do całkowitej supresji mutacji w locus *HY2*. Mimo uzyskania aktywnej fizjologicznie formy fitochromu, nie udało się przywrócić pełnego fenotypu rośliny typu dzikiego. Plejotropowy charakter mutacji doprowadził do powstania zakłóceń również i w tych funkcjach komórkowych, które leżą poza zasięgiem kontroli fitochromowej. Mutacja w loci *hy2* dotyczyć może bardzo wczesnych etapów powstawania chromoforu, blokując syntezę hemu, chlorofilu i innych związków tetrapiolowych. Uszkodzenie tych komponentów uniemożliwia realizację właściwej WT fotomorfogenezy, nawet w obecności biliwerdyny [27].

Ostatnio opisano mutantu pomidora (*fri*) charakteryzującego się podobnie jak mutanty *hy Arabidopsis* wydłużonym hypokotylem [47]. Ponadto etiolowane siewki tego mutantu wykazują znacznie obniżony poziom białkowego składnika fitochromu labilnego. Omawiana mutacja została zlokalizowana w chromosomie 10 (podobnie jak gen kodujący białkowy składnik fitochromu labilnego). Poza tym za pomocą metody Northern (ang. Northern analysis) wykazano, że w mutantach *fri* PHYA mRNA jest znacznie zmodyfikowany, w porównaniu do analogicznego transkryptu u roślin typu dzikiego. Mutacja typu *fri* wpływa na obniżenie wrażliwości roślin na działanie światła dalekiej czerwieni, stąd mutanty te nazwane zostały jako „niewrażliwe na FR” (ang. FR-insensitive) [47].

MUTACJE DOTYCZĄCE FITOCHROMU STABILNEGO (PHYB)

Najlepiej scharakteryzowanymi mutantami tej grupy są: mutant *hy3* rzodkiewnika [22, 35, 38] oraz *lh* ogórka [2, 8, 20, 43]. Poza tym obecność mutacji dotyczących phyB stwierdzono u innych roślin dwuliściennych, np. u kapusty (mutacja *ein*) [8, 43], sorgo (*ma^{3R}*) [8, 45], grochu (*lv*) [13, 35] i pomidora (*tri*) [16, 48].

Kryterium selekcji mutacji dotyczących phyB stanowi wrażliwość roślin na tzw. końcowodniowe naświetlanie FR (EOD-FR) siewek rosnących na normalnym fotoperiodzie. Stosowanie kilku cykli naświetlań roślin światłem FR, tuż przed przeniesieniem ich do ciemności, stymuluje wzrost elongacyjny hypokotyłu. Rośliny wrażliwe na EOD-FR, w wyniku takiego traktowania, są znacznie wyższe od siewek kontrolnych (nie traktowanych FR). Pod wpływem światła FR, powstały w ciągu dnia fitochrom stabilny w postaci Pfr, ulega konwersji do formy Pr. Jedynie aktywna forma fitochromu (Pfr) hamuje wzrost elongacyjny łodygi oraz na drodze sprzężenia zwrotnego hamuje transkrypcję genu *PHYA*. Brak u roślin formy Pfr (na skutek ich naświetlania pod koniec fazy jasnej FR) prowadzi do podwyższenia tempa wzrostu rośliny. Mutanty pozbawione aktywnej formy fitochro-

mu stabilnego nie wykazują wrażliwości na EOD-FR. Naświetlanie ich tą długością światła nie prowadzi do powstania obserwowalnych różnic między siewkami mutantów poddanymi próbie, a nie traktowanymi światłem FR.

Dobrze poznanym mutantem stabilnej formy fitochromu jest mutant *lh* (od ang. *long hypocotyl* – długi hypocotyl) u ogórka. Badania z użyciem przeciwciał monoklonalnych (mAT1) uzyskanych na bazie homologicznej do *PHYB* sekwencji DNA (cDNA) wykazały u tego mutantu brak białkowego składnika *PHYB* [24]. Stosując tę samą metodę nie stwierdzono istnienia zaburzeń w syntezie białkowego składnika fitochromu labilnego, a zawartość fitochromu labilnego odpowiada ilości *phyA* w tkankach etiolowanych roślin WT. Ponadto etiolowane siewki *lh* charakteryzowały się podobnym przebiegiem procesów fizjologicznych, regulowanych przez *phyA* (kiełkowanie nasion, wzrost wydłużeniowy łodygi) jak rośliny WT [2, 30].

Również u grochu stwierdzono występowanie mutantów fenotypowo przypominających *lh* ogórka [26]. Początkowo uważano, że w wyniku powstania tej mutacji dochodzi do jego „nadwrażliwości” na działanie gibereliny. Jednak późniejsze badania spektrofotometryczne i immunochemiczne dostarczyły dowodów, pozwalających zaklasyfikować omawianego mutantu (*lv*) do grupy mutantów fotomorfogenetycznych. Etiolowane lub naświetlane FR siewki *lv* przypominają pokrojem rośliny typu dzikiego. Dopiero dalszy rozwój na świetle białym, czerwonym lub niebieskim indukuje powstawanie różnic między mutantem *lv* a roślinami WT. Poza tym mutant ten nie wykazuje wrażliwości na EOD-FR. Pomiary poziomu białkowego składnika fitochromu labilnego (*phyA*) i stabilnego (*phyB*) wykazały brak odchyień w porównaniu z formami WT. Nie wykryto również różnic w zawartości *phyA* i *phyB* w porównaniu do form typu dzikiego. Wynika stąd, że powstała mutacja nie wpływa na obniżenie poziomu białkowego składnika obu pul fitochromów. Niemniej prowadzi ona do powstania zakłóceń w indukowanych przez *phyB* procesach fotomorfogenetycznych, bądź zakłóca przebieg biosyntezy pozostałych typów fitochromów u gro-

chu (analogicznych do *phyC*, *phyD*, *phyE* u rzodkiewnika) [26].

Stosunkowo dobrze poznanym jest mutant *hy3 Arabidopsis*. Stosując odpowiednie metody badawcze wykazano, że mutant ten w stosunku do roślin typu WT charakteryzuje się obniżoną zawartością zarówno *PHYB* mRNA, jak i *PHYB*. Mimo różnic w poziomie *phyB*, etiolowane siewki WT oraz siewki *hy3*, po naświetleniu światłem R wykazują podobną dynamikę spadku zawartości fitochromu labilnego (*phyA*) i względnie stały poziom *phyC* [38]. Biorąc pod uwagę fizjologiczne efekty mutacji *hy3* oraz powstawanie zaburzeń towarzyszących procesowi deetioloacji (słaby rozwój chloroplastów, obniżona ilość chlorofilu i chloroplastów przypadających na komórkę mezofilu liścia) można wnioskować o znaczącym udziale fitochromu stabilnego w regulacji wzrostu i rozwoju roślin.

Ostatnio u pomidora wyselekcjonowano mutantu z zaburzeniami dotyczącymi syntezy białkowego składnika fitochromu. Mutant ten (określony jako *tri*, od ang. *temporarily red light insensitive* – przejściowo niewrażliwy na światło czerwone) charakteryzuje się brakiem wrażliwości na światło R podczas pierwszych dni deetioloacji, niezależnie od fizjologicznego wieku siewki. Omawianą mutację zlokalizowano w chromosomie 1. Ponadto wykazano, że dotyczy ona genu kodującego białkowy składnik *phyB1* (na podstawie wyników badań wykonanych metodą Northern dla *PHYB1* mRNA) [48]. Ponieważ mutant *tri* wykazuje wrażliwość na EOD-FR przypuszcza się, że obie formy fitochromu stabilnego (*phyB1* i *phyB2*) współdziałają w regulacji odpowiedzi na naświetlanie światłem FR. Również podwójny mutant *fri/tri*, przypominający pokrojem mutantu *tri* rosnącego na świetle białym, wykazuje prawidłowy przebieg fotomorfogenezy [48] (Tab. 2 i 4).

MUTACJE ŁAŃCUCHA TRANSDUKCJI SYGNAŁU ŚWIETLNEGO

W przeciwieństwie do wszystkich mutantów zaliczanych do powyżej omówionej grupy, rośliny z mutacjami dotyczącymi różnych elementów łańcucha transdukcji sygnału świetlnego nie

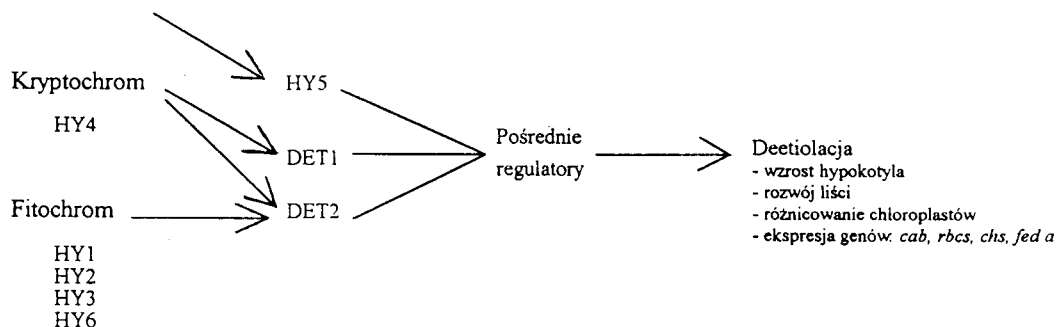
wykazują zaburzeń w szlaku biosyntezy grupy chromoforowej lub części białkowej fitochromu. W tkankach roślin etiolowanych oraz częściach zielonych rośliny tej klasy mutantów poziom fitochromu (odpowiednio labilnego i stabilnego) jest zbliżony do obserwowanego u roślin typu dzikiego (poza siewkami typu *lip1*, gdzie stwierdzono kilkudziesięcioprocentowy spadek zawartości fitochromu w porównaniu do WT) [11, 43].

Mimo prawidłowej budowy cząsteczek fotoreceptora i optymalnej jego zawartości w tkankach, mutanty tej grupy charakteryzują się odmienną morfologią, a często anomaliami rozwojowymi w porównaniu z formami dzikimi. Różnice te dotyczyć mogą roślin etiolowanych (np: mutanty *cop*, *det*, *lip*), jak i siewek traktowanych światłem ciągłym (np: mutanty *hp*, *lw*). Źródeł ich upatruje się w mutacjach, doprowadzających do zakłóceń w transdukcji sygnału świetlnego. Prowadzą one do zaburzeń w przebiegu indukowanych przez fitochrom procesów fotomorfogenetycznych. Pojawienie się nietypowych jak dla roślin etiolowanych cech stwierdzono u rzodkiewnika i grochu. Dotyczy to mutacji typu *det* (od ang. deetiolated, – deetiowany) i *cop* (od ang. constitutively photomorphogenic, konstytutywnie fotomorfogeniczny) [2, 8–9, 13, 43]) rzodkiewnika oraz mutacji *lip* (od ang. light independent photomorphogenesis – niezależna od światła fotomorfogeneza) [8, 11, 43]. W wyniku mutacji, u tej grupy mutantów dochodzi do unikalnej inicjacji procesów fotomorfogenetycznych, których realizacja u roślin typu dzikiego stymulowana jest światłem. Dlatego etiolowane siewki typu: *cop* i *det Arabidopsis* charakteryzują się krótkimi hypokotylami i dobrze rozwiniętymi liścieniami, natomiast mutant typu *lip* grochu wykazuje obecność antocyjanów, krótkiego epikotyli i dobrze rozwiniętych liści. Poprzez wpływ mutacji na wewnątrzkomórkowy metabolizm rośliny, mutanty wykazują wzmożoną ekspresję genów jądrowych: *CAB* (dla białka LHPC), *RBCS* (kodującego małą podjednostkę karboksylazy rybulozobisfosforanowej), *CHS* (dla cząsteczki syntazy chalkonowej) i *FEDA* (dla ferredoksyny typu A). Poza tym w komórkach omawianych mutantów ob-

serwuje się obecność dobrze rozwiniętych plastydów, które jednak nie zawierają chlorofilu [8, 13, 43]. U mutantów *det1* stwierdzono również obecność chloroplastów w komórkach korzeni, w miejsce typowych dla roślin WT amyloplastów [8]. Ponadto efekty mutacji dotyczyć mogą zmian typowych dla konkretnych *loci*, np: karłowacenie siewek *cop3*, *cop9*, brak reakcji geotropicznych u mutantów *cop4*, czy obniżona płodność roślin typu *det*, *cop* [8, 26, 44–46].

Uwzględniając plejotropowy i recesywny charakter mutacji typu *det* i *cop* przyjmuje się, że geny *DET* i *COP* pełnią prawdopodobnie funkcję regulatorów procesu deetiologii u *Arabidopsis*, zapobiegając inicjacji fotomorfogenezy w ciemności. Obniżona płodność i słaby wzrost mutantów *det* i *cop* rozwijających się na świetle, świadczy o uczestniczeniu produktów wspomnianych genów w rozwoju inicjowanym przez światło [7–8]. Także różnicowanie proplastydów w chloroplasty w korzeniach mutantów *det1* i *cop1* sugeruje, że wyrosłe na świetle rośliny wymagają tych genów dla przestrzennej represji procesu transkrypcji innych genów, ulegających ekspresji na świetle [8–9]. Natomiast opóźnienie kwitnienia, starzenia się liści i chloroplastów oraz obniżona zdolność do ciemnowej adaptacji ekspresji genów *CAB*, *RBCS* u mutantów *det2* świadczy o udziale produktu genu *DET2* w reakcjach fotoperiodycznych deetiowanych roślin i jego roli jako represora w indukcji odpowiedzi fotomorfogenetycznych roślin, inicjowanych światłem, w późniejszym okresie rozwoju wegetatywnego.

Sekwencje genu *COP1* wykazują pewną homologię do występującego w komórkach drożdży genu *TUP1*, którego produkt jest głównym represorem transkrypcji genów [8]. Poza tym białko powstające na matrycy *COP1* mRNA zawiera tzw. palce cynkowe i sekwencje aminokwasów homologiczne do domen białek G. Możliwy jest zatem udział genu *COP1* w przekazywaniu informacji od fotoreceptora wzdłuż łańcucha transdukcji sygnału świetlnego, na drodze oddziaływania z białkiem G (Tab.2). Oprócz wymienionych również inne geny z rodziny *COP* (*COP8-COP11*) pełnić mogą podobną funkcję [45–46]. Produkt genu *COP9* może



Ryc. 1. Regulacja fotomorfogenezy u *Arabidopsis thaliana*. Inicjowana przez światło czerwone i niebieskie deetiolacja regulowana jest przez produkty genów lub poprzez niezidentyfikowane pośrednie regulatory (np. cytokininy). Produkt genu *HY5* indukuje trzeci możliwy szlak transdukcji sygnału. Strzałki wskazują regulację pozytywną, linie pogrubione negatywna w interakcji: receptorów, genów i pośrednich regulatorów. (Na podstawie [1], zmodyfikowane).

Fig. 1. Regulation of photomorphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. Either, red – or blue-light initiated deetiolation of plants is regulated by gene products or by non-identified secondary regulators (cytokinin). Product of *HY5* gene induces the third possible signal transduction pathway. Arrows show positive, whereas bold line negative regulation of interacted receptors, genes and secondary regulators (according to [1], modified).

wchodzić w skład wielkocząsteczkowego kompleksu białkowego, którego aktywność kontrolowana jest przez światło [45].

Odmiennymi właściwościami charakteryzują się mutanty: *hp* u pomidora i *lw* u grochu. W przeciwieństwie do mutantów typu: *det*, *cop*, *lip* ta grupa roślin rozwija się w ciemności w sposób charakterystyczny dla WT. Dopiero przeniesione na światło siewki tych mutantów wykazują odmienny przebieg fotomorfogenezy, będący wynikiem zwiększonej wrażliwości tych roślin na działanie światła. Mutacje w loci *hp* i *lw* stymulują procesy regulowane przez phyB. Efektem zaburzeń są: wzmożone hamowanie wzrostu hypocotyła, podwyższona zawartość antocyjanów oraz chlorofilu [3, 8, 14, 16, 30, 43]. Wyrosłe na świetle siewki mutantu *hp* są silnie skarłowaciałe, posiadają dobrze rozwinięte, ciemnozielone liście, a dojrzałe owoce wskutek podwyższonej zawartości likopenów i karotenoidów, są bardziej czerwone niż owoce obserwowane u pomidora dzikiego [16, 30]. Badania nad mutantami *hp* pomidora trwają już stosunkowo długo. Samorzutnie powstające mutanty typu *hp* zostały wyselekcjonowane w 1917 roku [16]. Kilkadziesiąt lat później, Mochizuki i Kamimura (1987), stosując ciągle światło czerwone, wyse-

lekcjonowali wiele nowych roślin z mutacjami w loci *hp* (*hp-1*), charakteryzujących się ekstremalnymi właściwościami. Słabsze kiełkowanie nasion, obniżona sucha masa hypocotyła i większa łamliwość łodygi, a tym samym większa śmiertelność mutantu *hp-1*, świadczą o zaburzeniach wielu podstawowych procesów wpływających na morfogenezę roślin oraz o wybitnie plejotropowej naturze tej mutacji [3, 16, 25, 39].

Bardzo niskim wzrostem w świetle czerwonym charakteryzuje się również mutant *lw* grochu, który odznacza się podwyższoną wrażliwością na reakcje kontrolowane przez fitochrom stabilny, czego dowodem jest silna stymulacja wzrostu elongacyjnego epikotyła w odpowiedzi na EOD-FR [14].

MUTANTY FOTOMORFOGENETYCZNE ZE ZMNIJSZONĄ WRAŻLIWOŚCIĄ NA ŚWIATŁO NIEBESKIE

Arabidopsis jest jak dotychczas jedyną rośliną wyższą, u której zostały zidentyfikowane mutanty o obniżonej wrażliwości na działanie światła niebieskiego (B). Stosując jako kryterium podziału efekty fizjologiczne wyróżnia się dwie klasy mutacji: i) mutacje wpływające na

Tabela 4. Mutanty fotomorfogenetyczne o obniżonej wrażliwości na światło niebieskie

Table 4. Photomorphogenic mutants with decreased sensitivity to blue light.

Rosлина <i>Species</i>	Mutant <i>Mutant</i>	Fenotyp mutant <i>Mutant phenotype</i>
Rzodkiewnik pospolity (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>hy4</i>	długi hypokotyl u siewek rosnących na świetle białym — <i>long hypocotyl in seedlings grown under white light</i>
	<i>blu1</i>	długi hypokotyl u siewek rosnących na świetle niebieskim — <i>long hypocotyl in seedlings grown under blue light</i> słabo rozwinięte liście — <i>delayed cotyledon expansion</i>
	<i>blu2</i>	podobny do <i>blu1</i> — <i>imilar to blu1</i>
	<i>blu3</i>	długi hypokotyl u siewek rosnących na świetle niebieskim — <i>long hypocotyl in blue light- grown seedlings</i>
	<i>JK218</i>	brak fototropizmu — <i>no phototropism</i>
	<i>JK224</i>	osłabiony fototropizm — <i>delayed phototropism</i>
		obniżona wrażliwość na światło białe i niebieskie — <i>decreased sensitivity to white and blue light</i>
	<i>hy5</i>	długi hypokotyl u siewek rosnących na świetle białym — <i>long hypocotyl in seedlings grown under white light</i> częściowa supresja mutacji <i>det1</i> i <i>det2</i> w ciemności i na świetle — <i>partial suppression of the det1 and det2 mutations in the darkness and light</i>

hamowanie wzrostu hypokotyła, np. mutanty *hy4* i *blu* (ang. blue light uninhibited – niehamowane przez światło niebieskie) oraz ii) mutacje związane z ruchami fototropicznymi (np. mutanty: *JK218*, *JK224*) [8, 23]. Mutanty typu *blu* charakteryzują się obniżoną inhibicją wzrostu wydłużeniowego łodygi w warunkach światła niebieskiego, natomiast nie różnią się długością hypokotyła od siewek typu WT, gdy rosną w świetle białym. Wobec tego wpływ mutacji *blu* na wzrost roślin w warunkach naturalnych jest mało istotny [8, 23]. Mutanty *JK218* i *JK224* wykazują normalną elongację hypokotyła w świetle niebieskim, natomiast charakteryzują się brakiem lub znacznie obniżonym fototropizmem [8]. Wpływ światła B na tego typu tropizmy polega prawdopodobnie na udziale tej części widma w fosforylacji 120 kD białka związanego z błonami komórkowymi, co jest jednym z pierwszych etapów transdukcji sygnału świetlnego, prowadzącego do wykrzywienia fototropicznego (podobieństwo wysycenia światłem fototropizmu i fosforylacji indukowanej światłem niebieskim) (Tab. 4).

INTERAKCJE MIĘDZY GENAMI KONTROLUJĄCYMI FOTOMORFOGENEZĘ

Ustalenie hierarchii w sieci genów, których produkty uczestniczą w regulacji procesów fotomorfogenetycznych opiera się na analizie fenotypów podwójnych mutantów i określeniu zależności epistazy oraz komplementarności genów. Jeśli fenotyp podwójnego mutantu warunkowany jest tylko przez jeden ze zmutowanych genów, to biochemiczna i fizjologiczna interpretacja tego zjawiska (epistazy) jest taka, że produkt genu epistatycznego wymaga do swego funkcjonowania genu wykazującego hipostazę [14]. Addytywny fenotyp podwójnego mutantu świadczy natomiast o niezależnie przebiegających szlakach ich działania. Opierając się na tych założeniach ustalono, że zarówno światło białe, jak i światło niebieskie obniżają aktywność genów *DET2* i *DET2* [8]. Addytywny fenotyp podwójnego mutantu *det1/det2* sugeruje, że geny *DET1* i *DET2* wchodzą w skład niezależnych „ścieżek” szlaków transdukcji sygnału, bądź też działają w oddzielnych gałęziach jed-

nego szlaku, indukującego procesy fizjologiczne, inicjowane światłem (Ryc. 1).

Istotnych informacji na ten temat dostarczyły badania z użyciem mutantu *hy5 Arabidopsis*, charakteryzującego się obniżoną wrażliwością na światło białe i niebieskie [34]. Addytywne fenotypy podwójnych mutantów: *hy5/hy1* (lub *hy5/hy2*) oraz *hy5/hy4* pozwoliły na wyróżnienie trzeciej gałęzi łańcucha transdukcji sygnału świetlnego, niezależnej od fitochromu i fotoreceptora światła niebieskiego, w której uczestniczy gen *HY4*. Poza tym na podstawie fenotypów podwójnych mutantów typu: *hy4/hy1*, *hy4/hy2*, *hy4/hy3* ustalono, że szlaki transdukcji sygnału światła czerwonego i niebieskiego są przynajmniej częściowo niezależne od siebie (długości hypokotyli w tych krzyżówkach były sumą długości łodyg pojedynczych mutantów) [8, 34].

Transdukcję sygnału, prowadzącą do powstania odpowiedzi fotomorfogenetycznych inicjowanych światłem niebieskim należy rozpatrywać kompleksowo. Mieszanie powstające w wyniku skrzyżowania mutantów typu *blu* (*blu1*, *blu2*, *blu3*) oraz *JK* (*JK218*, *JK224*) są niewrażliwe na działanie światła niebieskiego, stąd m.in. nie wykazują hamowania wzrostu hypokotyli oraz są ułomne pod względem fototropizmu. Zatem systemy transdukcji sygnału doprowadzające do ujawnienia się obydwu wyżej wymienionych odpowiedzi fizjologicznych są odseparowane genetycznie. Na tej podstawie można spekulować, że u badanych roślin funkcjonują dwa różne typy fotoreceptory dla światła niebieskiego lub pojedynczy receptor wysyłający sygnały biegnące rozbieżnymi szlakami transdukcji [34, 43]. Szlaki transdukcji sygnału dla światła czerwonego (białego) i niebieskiego mogą zbiegać się w wyniku inicjacji takich genów jak *DET1*, *DET2* i *COP*, których produkty pełnią nadrzędną rolę w powstawaniu odpowiedzi fizjologicznych inicjowanych przez obie długości światła [8, 34] (Ryc. 1).

ZAKOŃCZENIE

Zastosowanie w badaniach mechanizmów wzrostu i rozwoju roślin mutantów fotomorfogenetycznych dostarcza wielu informacji o roli i

sposobie funkcjonowania fotoreceptorów roślinnych. Umożliwia również szczegółową analizę poszczególnych elementów łańcucha transdukcji sygnału świetlnego, które uaktywniając materiał genetyczny rośliny skierowują jej rozwój w ściśle określonym kierunku. Jak dotąd większość badań prowadzonych było na siewkach rzodkiewnika. Ostatnio, dzięki staraniom M. Koornneffa i R. E. Kendricka z Wageningen Agricultural University (Holandia) wyselekcjonowano szereg ciekawych mutantów pomidora, charakteryzujących się brakiem labilnej bądź stabilnej puli fitochromu oraz nieprawidłowym przebiegiem procesów transdukcji sygnałów świetlnych [16, 47, 48] (Tab. 4). Najciekawsze ze wspomnianych mutacji zostały omówione w prezentowanej pracy.

LITERATURA

- [1] ADAMSE P., JESPEERS P. A. P. M., BAKKER J. A., WESSELIUS J. C., HEERINGA G. H., KENDRICK R. E., KOORNNEEF M. 1988. Photoregulation of a tomato mutant deficient in labile phytochrome. *J. Plant Physiol.* **133**: 436–440.
- [2] ADAMSE P., JESPEERS P. A. P. M., KENDRICK R. E., KOORNNEEF M. 1988. Photophysiology of phytochrome content of longhypocotyl mutant and wilde type cucumber seedlings. *Plant Physiol.* **87**: 264–268.
- [3] ADAMSE P., PETERS J. L., JESPEERS P. A. P. M., VAN TUINEN A., KOORNNEEF M., KENDRICK R. E. 1989. Photocontrol of anthocyanin synthesis in tomato seedlings: genetic approach. *Photo – chem. Photobiol.* **50**: 107–111.
- [4] BOYLAN M. T., QUAIL P. H. 1989. Oat phytochrome is biologically active in transgenic tomatoes. *Plant Cell* **1**: 765–773.
- [5] BURDICK A. B. 1958. New mutants. *Tomato Genet. Coop. Rep.* **8**: 9–11.
- [6] CASAL J. J., KENDRICK R. E. 1993. Impaired phytochromemediated shade avoidance responses in the *aurea* mutant of tomato. *Plant Cell Environ.* **16**: 703–710.
- [7] CHORY J. 1989. *Arabidopsis thaliana* mutant that develops as a light-grown plant in the absence of light. *Cell* **57**: 991–999.
- [8] CHORY J. 1993. Out of darkness: mutants reveal pathways controlling light-regulated development in plants. *TIG* **9**: 167–172.
- [9] CHORY J., PETO C. 1990. Mutation in *DET1* gene affect cell-type-specific expression of light-regulated genes and chloroplast development in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 8776–8780.
- [10] CHORY J., PETO C. A., FEINBAUM R., PRATT L., AUSUBEL F. 1989. *Arabidopsis thaliana* mutant that develops

- pes as a light-grown plant in the absence of light. *Cell* **58**: 991–999.
- [11] FRANCES S., WHITE M. J., EDGERTON M. D., JONES A. M., ELLIOT R. C., THOMPSON W. F. 1992. Initial characterization of a pea mutant with light-independent photomorphogenesis. *Plant Cell* **4**: 1519–1530.
 - [12] HAUSER B., CORDONNIER-PRATT M.-M., PRATT L. H. 1994. Differential expression of five phytochrome genes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Physiol.* **105** (Suppl): 72.
 - [13] HOU Y., VON ARNIM A. C., DENG X.-W. 1993. A new class of *Arabidopsis* constitutive photomorphogenic genes involved in regulating cotyledon development. *Plant Cell* **5**: 329–339.
 - [14] KENDRICK R. E., KRONENBERG G. H.M. 1994. Photomorphogenesis in Plants, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, ss. 828.
 - [15] KENDRICK R., NAGATANI A. 1991. Phytochrome mutants. *Plant J.* **1**: 133–139.
 - [16] KENDRICK R. E., KERCKHOFFS L. H.J., PUNDSNES S., VAN TUINEN A., KOORNNEEF M., NAGATANI A., TERRY M. J., TRETYN A., CORDONNIER-PRATT M.-M., HAUSER B., PRATT L. H. 1994. Photomorphogenic mutants of tomato. *Euphytica* **79**: 227–234.
 - [17] KERR E. A. 1981. Yellow-green-2 (yg-2) and auroid (aud) are alleles. *Tomato Genet. Coop. Rep.* **31**: 8.
 - [18] KHUSH G. S., RICK C. M. 1968. Cytogenetic analysis of the tomato genome by means of induced deficiencies. *Chromosoma* **23**: 452–484.
 - [19] KOPCEWICZ J., TRETYN A., CYMERSKI M. 1992. *Fitochrom i Morfogeneza Roślin*, PWN, Warszawa, ss. 251.
 - [20] KOORNNEEF M., VAN DER KNAPP B. J. 1983. Another long hypocotyl mutant at the *lh* locus. *Cucurbit Genet. Coop. Rep.* **6**: 13.
 - [21] KOORNNEEF M., CONE J. W., DEKENS R. G., O'HERNE-ROBERS E. G., SPRUIT C. J.G., KENDRICK R. E. 1985. Photomorphogenic responses of long hypocotyl mutant of tomato. *Plant Physiol.* **120**: 153–165.
 - [22] KOORNNEEF M., ROLF E., SPRUIT C. 1980. Genetic control of light-inhibited hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Z. Pflanzenphysiol.* **100**: 147–160.
 - [23] LISCUM E., HANGARTER R. 1991. *Arabidopsis* mutants lacking blue light-dependent inhibition of hypocotyl elongation. *Plant Cell* **3**: 685–694.
 - [24] LOPEZ-JUEZ E., NAGATANI A., TOMIZAWA K., DEAK M., KERN R., KENDRICK R. E., FURUYA M. 1992. The cucumber long hypocotyl mutant lacks a light-stable PHYB-like phytochrome. *Plant Cell* **4**: 241–251.
 - [25] MOCHIZUKI T., KAMIMURA S. 1985. Photosensitive method for selection of *hp* at the cotyledon stage. *Tomato Genet. Coop. Rep.* **35**: 12–13.
 - [26] NAGATANI A., REID J. B., ROSS J. J., DUNNEWIK A., FURUYA M. 1990. Internode length in *pisum*. The response to light quality, and phytochrome type I and II levels in *lv* plants. *J Plant Physiol.* **135**: 667–674.
 - [27] PARKS B. M., QUAIL P. H. 1991. Phytochrome-deficient *hyl* and *hy2* long hypocotyl mutants of *Arabidopsis* are deficient in phytochrome chromophore biosynthesis. *Plant Cell* **3**: 1177–1186.
 - [28] PARKS B. M., QUAIL P. H. 1993. *hy8*, a new class of *Arabidopsis* long hypocotyl mutants deficient in functional phytochrome A. *Plant Cell* **5**: 39–48.
 - [29] PARKS B. M., JONES A. M., ADAMSE P., KOORNNEEF M., KENDRICK R. E., QUAIL P. H. 1987. The *aurea* mutant of tomato is deficient in spectrophotometrically and immunochemically detectable phytochrome. *Plant Mol. Biol.* **9**: 97–107.
 - [30] PETERS J. L. 1992. Photomorphogenic mutants of higher plants. (PhD Thesis). Agricultural University Wageningen, The Netherlands, ss. 117.
 - [31] PRATT L. H. 1995. Phytochromes: differential properties, expression patterns and molecular evolution. *Photochem. Photobiol.* **61**: 10–21.
 - [32] QUAIL P. H. 1991. Phytochrome: A light-activated molecular switch that regulates plant gene expression. *Ann. Rev. Genet.* **25**: 389–409.
 - [33] QUAIL P. H. 1994. Phytochrome genes and their expression. W: *Photomorphogenesis in Plants*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, ss. 71–104.
 - [34] QUAIL P. H. 1994. Photosensory perception and signal transduction in plants. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **4**: 652–661.
 - [35] REED J. W., NAGPAL P., POOLE D. S., FURUYA M., CHORY J. 1993. Mutations in the gene for the red/far red light receptor phytochrome B alter cell elongation and physiological responses throughout *Arabidopsis* development. *Plant Cell* **5**: 147–157.
 - [36] SHARMA R. E., LOPEZ-JUEZ E., NAGATANI A., FURUYA M. 1993. Identification of photoinactive phytochrome A in etiolated seedlings and photoactive phytochrome B in green leaves of the *aurea* mutant of tomato. *Plant J.* **4**: 1035–1042.
 - [37] SHAROCK R. A., QUAIL P. H. 1989. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes Develop.* **3**: 1745–1757.
 - [38] SOMERS D., SHAROCK R. A., TEPPERMAN J. M., QUAIL P. H. 1991. The *hy3* long hypocotyl mutant of *Arabidopsis* is deficient in phytochrome B. *Plant Cell* **3**: 1263–1274.
 - [39] THOMPSON A. E., HEPLER R. W., KERR E. A. 1962. Clarification of the inheritance of high total carotenoids pigments in the tomato. *Am. Soc. Hort. Sci.* **81**: 434–442.
 - [40] TRETYN A. 1992. *Fitochrom. W: Fitochrom i Morfogeneza Roślin*, PWN, Warszawa, ss. 68–107.
 - [41] TRETYN A. 1992. Inne barwniki fotomorfogenetyczne. W: *Fitochrom i Morfogeneza Roślin*, PWN, Warszawa, ss. 108–119.
 - [42] TRETYN A. 1992. Światło i ekspresja genów. W: *Fitochrom i Morfogeneza Roślin*, PWN, Warszawa, ss. 120–137.
 - [43] TRETYN A., KOPCEWICZ J. 1993. Mutanty fitochromowe w badaniach nad morfogenezą roślin. *Post. Biol. Kom.* **4**: 435–446.
 - [44] WEI N., DENG X.-W. 1992. *COP9*: A novel genetic lo-

- cus involved in light-regulated development and gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **4**: 1507–1508.
- [45] WEI N., CHAMOWITZ D. A., DENG X.-W. 1994. *Arabidopsis* *COP9* is a component of a novel signaling complex mediating light control of development. *Cell* **78**: 117–124.
- [46] WEI N., KWOK S. F., VON ARMIN A. G., LEE A., MCNELLIS T. W., PIEKOS B., DENG X.-W. 1994. *Arabidopsis* *COP8*, *COP10*, and *COP11* genes are involved in repression of photomorphogenetic development in darkness. *Plant Cell* **6**: 629–643.
- [47] VAN TUINEN, KERCKHOFFS L. H. J., A., NAGATANI A., KENDRICK R. E., KOORNNEEF M. 1994. Far-red light insensitive mutants of tomato. *Mol. Gen Genet.* **246**: 133–141.
- [48] VAN TUINEN, KERCKHOFFS L. H. J., A., NAGATANI A., KENDRICK R. E., KOORNNEEF M. 1995. A temporarily red light-insensitive mutant of tomato lacks a light-stable, B-like phytochrome. *Plant Physiol.* **108**: 939–947.