

FOTOPERIODYCZNA INDUKCJA KWITNIENIA ROŚLIN

I. FITOCHROM W KONTROLI KWITNIENIA ROŚLIN DNIA KRÓTKIEGO

Photoperiodic induction of plant flowering I. Phytochrome in the control of short day plants flowering

Mariusz CYMERSKI, Jan KOPCEWICZ

Summary. The photoreceptor phytochrome has been extensively characterized at the chromophore, protein and gene level. It consist of a family of red/far-red reversible molecules and the genes for three members have been sequenced. Phytochromes are chromoproteins, which probably exist as dimer in vivo. The aim of this review has been to summarize recent developments in our understanding of the phytochrome systems of higher plants and use them to attempt to re-evaluate some problems of phytochrome action in photoperiodism. The possible involvement of different phytochromes in photoperiodic flower induction is discussed. Potential roles for different members of the phytochrome family and homo- and hetero-dimers of phytochrome are proposed.

Key words. Flowering, photoperiodic induction, phytochrome

Dr Mariusz Cymerski, prof. dr hab. Jan Kopcewicz, Zakład Fizjologii i Morfogenezy Roślin, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Gagarina 9, 87–100 Toruń

WSTĘP

Fotoindukcja generatywna u roślin fotoperiodycznie wrażliwych polega na rejestracji poprzez system fitochromowy komórek liści bądź liścieni właściwego dla rośliny fotoperiodu, co prowadzi do wytworzeniu w tych organach specyficznego, bliżej jeszcze nie poznanego, „stanu indukcji”, który w uproszczeniu sprowadzany jest często do powstania hipotetycznego induktora(ów) kwitnienia. Czynniki te, niezależnie od ich natury, są następnie transportowane do wierzchołków wzrostu pędów, gdzie zapoczątkowują tzw. ewokację, czyli przemiany biochemiczne, i cytologiczne, zakończone wytworzeniem zawiązków i morfogenezą kwiatu [23].

Rośliny dnia krótkiego (SDP) wymagają fotoperiodu z przedłużoną fazą ciemną, jednakże

jej długość oraz ilość indukcyjnych cykli zależą od warunków uprawy, wieku i gatunku rośliny. Większość badań nad fotoindukcją SDP prowadzona jest na modelowej roślinie *Pharbitis nil*, która może być zaindukowana w fazie kilkudniowej siewki, już przez pojedynczą długą noc.

FAZA JASNA FOTOPERIODU (DZIEŃ)

Rośliny SDP indukowane są poprzez przedłużoną ciemność, jednakże faza jasna cyklu posiada również duże znaczenie. Siewki *Pharbitis* zakwitają czasami w ciemności, pod warunkiem jednak, że zaopatrzy się je w sacharozę oraz przetrzymuje w temperaturze poniżej 15°C [16]. W wyższych temperaturach wcześniejsza ekspozycja na światło jest niezbędna i decyduje o

wrażliwości na indukcyjny okres ciemny [42]. Minimalnym wymaganiem świetlnym jest krótka ekspozycja na czerwień (R). Rośliny kwitną, ale bardzo słabo, a indukcyjna noc musi być dłuższa od 48 godzin. Pełną indukcję uzyskuje się przy 24 godz. światła białego (W) i następujących później 24 godz. ciemności. Dwa impulsy czerwieni oddzielone ciemną przerwą o długości 24–32 godz. w pełni zastępują ciągłe światło białe. Przedłużanie lub skracanie przerwy ciemnej obniża procent roślin kwitnących. Przy osiemnastogodzinnej przerwie rośliny pozostają wegetatywne. Oba impulsy R są odwracane przez daleką czerwień (FR), co wskazuje, że przynajmniej w tej fazie fitochrom w formie P_{fr} jest konieczny dla indukcji kwitnienia [42].

Zastąpienie światła białego FR uniemożliwia indukcję generatywną. Jeśli jednak 24-godzinną ekspozycję na FR zakończy się krótkim impulsem R to późniejszy 24-godzinny okres ciemny indukuje zakwitanie w 80 procentach. Światło czerwone, zwane „rubinowym”, ustalające stan fotorównowagi fitochromu (stosunek ilości aktywnej formy fitochromu P_{fr} do całkowitej zawartości fotoreceptora $P_{tot} = P_r + P_{fr}$) na ok. 40%, zastosowane zamiast światła białego w 24/24 fotoperiodzie (24godz. światła i 24godz. ciemności), powoduje pełne kwitnienie bez konieczności końcowej ekspozycji na R. Natomiast końcowe naświetlanie impulsem światła rubinowego po 24 godz. FR jest nieefektywne [34].

Możliwość zastąpienia światła białego ciągłą daleką czerwiecią, oraz późniejsze doświadczenia z roślinami fotowybielonymi (pozbawionymi chlorofilu poprzez traktowanie odpowiednim herbicydem) wskazują, że kontrola zakwitania w fazie jasnej nie odbywa się przez prostą regulację poziomu asymilatów, jak to wcześniej sugerowano, ale jest to typowa reakcja fotomorfogenetyczna z zaangażowaniem układu fitochromowego.

KRYTYCZNA DŁUGOŚĆ FAZY CIEMNEJ (NOCY) – CNL

W warunkach naturalnego fotoperiodu o indukcji generatywnej SDP decyduje długość fazy

ciemnej. CNL zależy jednak od wielu czynników takich jak temperatura, ilość cykli indukcyjnych, parametry światła w fazie jasnej, czy wiek roślin w okresie indukcji [42].

U SDP *Pharbitis* przy 10-ciu, 24-godzinnych cyklach dzień/noc z ciągłym światłem białym, CNL wynosi 8 do 10 godzin, przy czym dopiero poniżej trzech cykli krytyczna długość nocy zaczyna się zwiększać. Młode siewki wymagają zazwyczaj nieco dłuższej nocy (9–10 godz.) niż dojrzałe rośliny (8–9 godz.) a dla indukcji pąków pachwinowych wystarcza okres około 2 godz. krótszy niż dla kwiatu szczytowego [42].

Silnie oddziałuje na CNL zmiana temperatury. U *Pharbitis* dla pojedynczej nocy stosowanej na tle ciągłego światła białego, krytyczny okres ciemny przy temperaturze 25°C wynosi 9 godzin, natomiast dla 17°C jest dłuższy nawet od 24 godzin [16, 17, 18].

Również silny wpływ na CNL ma długość pojedynczego okresu jasnego (dnia). Następująca po ciągłym świetle białym, dłuższym niż 30 godz., CNL wynosi przy 25°C 8–10 godzin i wydłuża się wraz ze skracaniem fazy jasnej. Przy 24 godz. światła CNL osiąga już 12–13 godz. Dalsza redukcja okresu jasnego przedłuża CNL do 24 godzin a nawet więcej [18]. Jednakże przy powtarzalnych typowych fotoperiodach wystarcza już 6 do 12 godzin fazy jasnej dla 8–10 godzinnej CNL.

Interesujące są efekty uzyskiwane przez zastąpienie ciągłego światła białego czerwienią lub daleką czerwiecią (Tab. 1). Ciągła czerwień w pełni zastępuje światło białe, ale podobnie działać może także daleka czerwień [7, 34]. Krytyczna długość nocy jest niemal taka sama przy ciągłym świetle białym co dalekiej czerwieni, o ile tylko FR zakończona jest choćby 10 min. impulsem światła czerwonego. Bez zakończenia czerwienią indukcja jest niemożliwa – rośliny nie kwitną niezależnie od długości nocy [18, 19]. Jest to o tyle zaskakujące, że światło białe ustala fotorównowagę fitochromu (P_{fr}/P_{tot}) na poziomie 75%, a daleka czerwień tylko 3%. Widocznie w fazie jasnej wystarczający jest nawet tak niski poziom P_{fr} , byleby sytuacja ta trwała przez dostatecznie długi czas. Świadczą

Tabela 1. Wpływ warunków pojedynczego okresu jasnego na krytyczną długość nocy (CNL) u *Pharbitis nil*. W-światło białe; R-czerwień; FR-daleka czerwień; D-ciemność.Table 1. The influence of condition of a single light period on the critical night length (CNL) in *Pharbitis nil*. W-white light; R-red light; FR-far-red light; D-darkness

Warunki okresu jasnego			Krytyczna długość nocy
światło	czas	temperatura	CNL przy 26°C [godz.]
ciągłe światło białe			9 – 10
24 godz W + 10 min R			12
24 godz W + 10 min R			14
24 godz R			12
24 godz FR + 10 min R			14
10 min R + 24 godz D + 10 min R			18

o tym również dane otrzymane przy stosowaniu czerwieni w fazie jasnej. Jak wspomniano powyżej, pojedynczy impuls czerwieni, zastępujący ciągłe światło białe, choć ustala wysoki poziom P_{fr} (80%) jest nieefektywny – rośliny kwitną słabo lub wcale. Natomiast dwa impulsy czerwieni oddzielone co najmniej 24-godzinną przerwą (tzw. szkieletowa faza jasna) doskonale zastępują ciągłe światło białe, choć CNL jest nieco dłuższa (18 godz.) [7, 19, 28].

Światło dalekiej czerwieni zastosowane w trakcie fazy jasnej powoduje skutki zależne od pory ekspozycji. Gdy FR stosuje się przez 1,5 godziny począwszy od trzeciej godziny przed końcem fazy jasnej to CNL skraca się o 1,5 godziny. Natomiast 1,5 godzinna ekspozycja na FR w dziewiątej godzinie przed końcem dnia wydłuża CNL o około 1 godzinę [18].

REAKCJE WYMAGAJĄCE P_{fr}

Zastosowanie impulsu FR na zakończenie fazy jasnej fotoperiodu (naświetlanie końcowodniowe) w wielu wypadkach zapobiega kwitnieniu a efekt ten jest odwracany przez światło czerwone [34]. Sugeruje to niezbedność określonego poziomu P_{fr} w trakcie indukcyjnej nocy. Jednakże pewne fakty wskazują również, że reakcje wymagające P_{fr} niekoniecznie zachodzić muszą w ciemności, lecz przebieg mogą również w fazie jasnej a nawet się tam zakończyć. Na przykład w trzech cyklach 24-godzin-

nych kwitnienie nie jest powstrzymywane przez końcowodniowe naświetlanie FR po każdej 5-cio godzinnej fazie jasnej [6]. Nawet w pojedynczym cyklu indukcyjnym daleka czerwień nie blokuje kwitnienia, o ile faza jasna jest dostatecznie długa. W takim przypadku końcowodniowe naświetlanie FR powoduje jedynie wydłużenie CNL [13]. Tak więc reakcje okresu ciemnego mogą nie wymagać obecności P_{fr} pod warunkiem, że pewien proces zależny od P_{fr} zakończy się wcześniej. Innymi słowy, reakcje wymagające obecności P_{fr} zdają się być niezależne od fazy fotoperiodu, a jedynie czas trwania P_{fr} decyduje o ich zakończeniu niezbędnym dla indukcji fotoperiodycznej. Okres czasu konieczny do pełnego zajścia tych reakcji może być w pewnych wypadkach bardzo długi, np. u SDP *Chenopodium rubrum* FR hamuje zakwitanie nawet po 40 godzinach ciemności, a u *Pharbitis* FR całkowicie blokuje kwitnienie w cyklu: 11 godz światła – 12 godz ciemności – 10 min. światła – 18 godz ciemności [6, 13]. Długie okresy ciemności, po których występuje jeszcze wrażliwość na FR wskazują na udział w kontroli indukcji fotoperiodycznej kwitnienia bardzo stabilnej formy fitochromu.

REAKCJE PRZERWANIA NOCY – (NB)

U *Pharbitis nil*, podobnie jak u innych SDP, przerwanie indukcyjnej nocy (NB) krótkim im-

pulsem R, hamuje kwitnienie w stopniu zależnym od pory zastosowania przerywającego nasświetlania. W przeciwieństwie do CNL, temperatura nie ma zasadniczego wpływu na ten proces, powoduje jednak czasami pojawienie się dodatkowych okresów maksymalnej wrażliwości na przerwanie nocy (NB_{max}). I tak u *Pharbitis* w okresie ciemnym następującym po ciągłym świetle białym NB_{max} występuje około ósmej godziny licząc od początku nocy. W temperaturze 25°C jest to jedyny punkt maksymalnej wrażliwości, natomiast przy 18°C pojawia się drugie maksimum w okolicy 30 do 40 godziny ciemności, przy czym krytyczna długość nocy w tej temperaturze wynosi 14 godzin. Jeśli ciągle światło zastąpi się „dniem szkieletowym”, to w następującej później ciemności pojawiają się rytmiczne okresy reakcji na czerwień, występujące w 12-godzinnych odstępach [25]. Efekt ten, aczkolwiek ujawniający się tylko w pewnych warunkach sugeruje istnienie rytmu dobowej wrażliwości na NB [24]. Uważa się, że rytm ten jest inicjowany wraz z pierwszym włączeniem światła i zatrzymywany w fazie niskiej wrażliwości już w pierwszych godzinach fazy jasnej. Ponowne uruchomienie rytmu w tej ustalonej fazie następuje wraz z początkiem nocy. Przy dłuższych okresach jasnym, zwłaszcza w temperaturach wyższych od 20°C, reakcja występuje tylko raz i nie jest powtarzana cyklicznie, co nadaje „zegarowi” mierzącemu czas charakter klepsydry.

Gdy *Pharbitis nil* uprawiana jest na ciągłym świetle białym, to w temperaturze 25°C CNL wynosi 9–10 godzin. Dla pełnej indukcji generatywnej wymagana jest jednak noc 16-godzinna. W trakcie tej indukcyjnej długiej nocy zarówno krótki impuls R jak i FR hamuje indukcję kwitnienia, jednakże rozkład czułości na obie długości fal jest zasadniczo odmienny [42]. FR ma maksimum hamowania na początku nocy natomiast R około ósmej godziny. Zarówno działanie czerwieni jak i dalekiej czerwieni może być odwracane przeciwstawnym światłem, jednakże tylko do poziomu ustalonego przez światło odwracające. Dodatkowo efekt ten może być maskowany przez szybki zanik odwracalności. Najlepsze rezultaty są osiągnięte, gdy przerwa

ciemna między impulsami R i FR nie przekracza 3 min, a oba impulsy są dostatecznie krótkie.

MIEJSCE RECEPCJI SYGNAŁU ŚWIETLNEGO

Przy pomocy światłowodów wykazano, że miejscem recepcji światła w reakcjach NB (przerwy nocnej) oraz wymagających P_{fr} są u młodych siewek liścienie, a u starszych roślin rolę tę przejmują liście [20, 26]. Zarówno usuwanie jak i zastanianie tych organów może uniemożliwić nie tylko reakcję NB, ale również indukcję generatywną w ciemności. Ważność liści czy liścieni w procesie formowania sygnału indukcyjnego potwierdziły doświadczenia z przeszczepianiem tych organów. Liście rośliny zaindukowanej po przeszczepieniu na niezaindukowaną powodują jej zakwitanie pomimo nieindukcyjnych warunków zewnętrznych [23, 31]. Jednocześnie wykazano, że pozostawienie na roślinie części liścieni niezaindukowanych hamuje zakwitanie, co może sugerować, iż produkują one określone inhibitory kwitnienia [26].

MODELE FUNKCJONOWANIA UKŁADU FITOCHROMOWEGO W INDUKCJI FOTOPERIODYCZNEJ

Z przedstawionych powyżej reakcji roślin na różne czynniki i parametry fotoperiodyczne wiadać, że zaproponowany w latach 60. prosty model funkcjonowania fitochromu w indukcji kwitnienia nie jest nawet dalekim przybliżeniem realnej sytuacji. Aczkolwiek zgromadzone rezultaty wieloletnich doświadczeń nie umożliwiają jeszcze konstrukcji uniwersalnego modelu fotokontroli kwitnienia, tym niemniej zarysowują się już jednak pewne prawidłowości poszczególnych etapów. Również nowe właściwości fitochromu odkryte dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej, pozwalają na pełniejszą interpretację danych eksperymentalnych.

Niewątpliwie do indukcji kwitnienia niezbędny jest pewien dość długi okres w którym wymagana jest obecność P_{fr} . Jednakże w tym samym czasie R może hamować kwitnienie [43]. Stąd wynika, że obecność P_{fr} może jednocześnie warunkować jak i hamować zakwitanie!

Ta paradoksalna sytuacja może być wyjaśniona tylko obecnością dwu lub więcej typów fitochromu o różnych kinetykach reakcji. Istnieje obecnie coraz więcej dowodów eksperymentalnych na to, że u roślin wyższych występuje więcej niż jeden rodzaj molekularny fitochromu [9, 35]. Pierwszy dowód pochodził z porównania reaktywności na szereg przeciwciał monoklonalnych fitochromu wyekstrahowanego z roślin będących w różnych stadiach rozwoju. Chociaż istnieją pewne epitopy wspólne, jednak większość przeciwciał skierowanych przeciw fitochromowi z tkanek roślin uprawianych w ciemności, oznaczanemu zazwyczaj PI, reagowała słabo lub wcale z PII, głównym fitochromem ekstrahowanym z roślin uprawianych na świetle [37]. Oba rodzaje fitochromu mają nieco odmienne właściwości fizyczne. PI ma ciężar cząsteczkowy 124 kDa oraz maksimum absorpcji w czerwieni przy 662 nm, natomiast PII – 118 kDa i 666 nm. Oba typy fitochromu różnią się również kinetykami reakcji. We wszystkich zbadanych dotąd przypadkach PII ma dużo dłuższy okres półżycia P_{fr} (większy od 8 godz) i jest w konsekwencji tego dużo bardziej stabilny na świetle niż PI (około 1–2 godz). Stąd oba typy nazywane są zazwyczaj odpowiednio: PI – labilnym i PII – stabilnym fitochromem [2, 10, 28, 32, 43].

U *Arabidopsis* stwierdzono trzy różne sekwencje fitochromowego cDNA, nazwane A, B i C. Najprawdopodobniej sekwencja A koduje PI, a sekwencje B i C PII. Byłoby to zgodne z wynikami immunochemicznych analiz PII z zielonych liści *Avena* wskazujących, iż jest to mieszanina przynajmniej dwu fitochromów [29].

Chociaż synteza P_r (fitochrom o maksimum absorpcji przy 660 nm) ma kinetykę zerowego rzędu (tzn. jest niezależna od stężenia produktu syntezy) [28, 30], to wykazano jednak istnienie inhibicji biosyntezy apoproteiny fitochromu przez światło. Wskazywałoby to na istnienie ujemnego sprzężenia zwrotnego tworzącego system autoregulacji poziomu fitochromu. Z drugiej strony jednak wykazano, że w kiełkujących zarodkach *Avena* inhibicja syntezy P_r odbywa się przez stabilną populację P_{fr} [12, 27]. Sugeruje to, że synteza PI mogła by być kontrolowana

przez PII. Możliwe jest również, że funkcjonalnie PI i PII są tu ekwiwalentne i oba są zdolne zarówno do autoregulacji jak i wzajemnej regulacji swojej syntezy.

Fotokonwersja fitochromu jest procesem wieloetapowym, odbywającym się poprzez szereg form pośrednich. Proces ten można podzielić na dwie fazy: (1) początkowe zmiany fotochemiczne prowadzące w ciągu nanosekund do przebudowy chromoforu a następnie, (2) w skali milisekund konformacyjne dopasowanie części białkowej chromoproteiny fitochromu [1]. Na ciągłym świetle pewna część fitochromu pozostaje w formie pośredników fotokonwersji [14, 15]. Ponieważ zachodząca również na świetle destrukcja fitochromu labilnego PI następuje głównie w formie P_{fr} , ustabilizowanie się fitochromu w którejś z form pośrednich fotokonwersji może być mechanizmem zabezpieczającym fitochrom przed dekompozycją. Ma to szczególne znaczenie przy wysokich intensywnościach strumienia światła, co stwarza dodatkowy mechanizm regulujący poziom tego fotoreceptora w roślinie.

Oczyszczone białko fitochromowe występuje w formie dimeru, z podjednostkami połączonymi poprzez domeny karboksylowe. Wykazano możliwość powstawania *in vitro* homodimerów $P_r:P_r$ i $P_{fr}:P_{fr}$ oraz heterodimeru $P_r:P_{fr}$ [3, 39]. Sugeruje się jednocześnie, że fitochrom działa jako dimer *in vivo*. Heterodimer $P_r:P_{fr}$ miałby być odpowiedzialny za reakcje na bardzo niskie natężenie strumienia światła/(VLF). W przeciwieństwie do homodimerów jest on bardziej niestabilny i ulega szybkiej ciemniowej rewersji [40].

Jak już wspomniano powyżej, doświadczenia fizjologiczne sugerują udział w kontroli indukcji fotoperiodycznej dwu typów fitochromu o różnej stabilności PI i PII. Możliwość taką sugerowano już od 1984 roku, proponując, że fitochrom labilny PI wykrywa początek ciemności a fitochrom stabilny PII jest odpowiedzialny za reakcje zależne od FR. Jednakże z powodu wspomnianej wcześniej inhibicji syntezy PI przez światło oraz jego szybkiej destrukcji w formie P_{fr} poziom PI na początku fazy jasnej jest prawdopodobnie bardzo niski, co powoduje

kwestionowanie PI jako cząsteczki wykrywającej koniec dnia u SDP [2]. Z drugiej strony u SDP *Pharbitis* wykryto intensywną rewersję części populacji P_{fr}II w ciemności, co sugeruje istnienie dwu subpopulacji PII, o różnych stabilnościach P_{fr} [40]. Należy oczywiście rozróżnić niestabilność P_{fr}I prowadzącą do destrukcji i konformacyjną niestabilność P_{fr}II prowadzącą do rewersji. Proponuje się, że ciemniowa rewersja dotyczy przede wszystkim heterodimerów P_r:P_{fr}. Homodimery P_{fr}:P_{fr} są dużo bardziej stabilne. Hipoteza ta zakłada możliwość rozróżnienia przez komórkę hetero- i homodimerów fitochromu, co jeszcze nie zostało jednak eksperymentalnie udowodnione.

Poznane właściwości molekularne różnych form fitochromu dają możliwość zaproponowania względnie spójnego modelu działania fitochromu w indukcji fotoperiodycznej.

KONCEPCJA FITOCHROMU NIEODWRACALNEGO (P_n)

Jak wspomniano powyżej, u SDP przerwanie długiej indukcyjnej nocy czerwienią hamuje kwitnienie. Za efekt ten wydaje się być odpowiedzialny nowo powstały P_{fr}I, jednak ten rodzaj fitochromu ulega bardzo szybkiej dekompozycji, co sugeruje możliwość udziału produktów destrukcji P_{fr}I w kontroli indukcji generatywnej. Destrukcja fitochromu P_{fr}I wymaga nakładu energii [2, 36], dlatego też inhibitory re-

akcji energetycznych jak KCN, 24-DNP czy antimycyna A hamują rozkład P_{fr}I [8, 22]. Okazuje się jednocześnie, że KCN zastosowany w trakcie indukcyjnej nocy u SDP *Pharbitis* odwraca hamujący wpływ R na indukcję kwitnienia (Tab. 2). Podtrzymuje to powyższą sugestię, że nie bezpośrednio P_{fr}I, lecz produkty jego destrukcji są przyczyną inhibicji indukcji kwitnienia [5]. Uwzględniając ten fakt można zaproponować następujący model funkcjonowania fitochromu [5, 6].

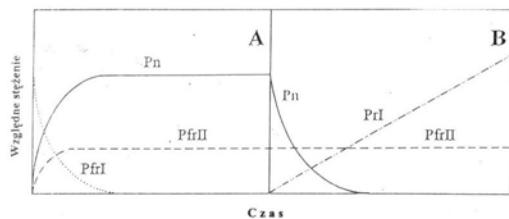
Wiadomo, że w ciemności w etiolowanych siewkach akumulowany jest fitochrom labilny P_rI. Po włączeniu światła rozpoczyna się kilka procesów:

1. Fotokonwersja fitochromu P_rI do P_{fr}I, zależna od natężenia i składu spektralnego strumienia świetlnego.
2. Szybki zanik fitochromu labilnego P_rI. Używany zazwyczaj na określenie tego zjawiska termin „destrukcja” jest mało adekwatny, gdyż pojęciowo sugeruje bezużyteczny rozpad fitochromu co, jak pokazano wyżej, niekoniecznie musi być prawdziwe. Dlatego też w dalszej części stosowany będzie bardziej odpowiedni termin: „transformacja nieodwracalna”.
3. Akumulacja produktu transformacji nieodwracalnej – fitochromu nieodwracalnego (P_n).
Poziom zakumulowanego P_n będzie wynikiem różnicy między tempem dostarczania

Tabela 2. Wpływ cyjanku potasu (KCN) i światła czerwonego (R) w trakcie indukcyjnej długiej nocy na kwitnienie u *Pharbitis nil*.

Table 2. The influence of potassium cyanide (KCN) and red light (R) during the inductive long night on the flowering in *Pharbitis nil*.

Warunki indukcyjne	Średnia liczba pąków na roślinę		
	pąków kwiatowych	pąków ogółem	% pąków kwiatowych
ciemność	6,7 ± 0,2	9,8 ± 0,4	68,4 ± 4,8
ciemność + R	0,2 ± 0,0	9,7 ± 0,3	2,1 ± 0,2
ciemność + KCN	6,3 ± 0,3	10,2 ± 0,4	61,8 ± 5,0
ciemność + KCN + R	6,1 ± 0,3	9,8 ± 0,4	61,6 ± 4,9
światło ciągle	0	9,8 ± 0,3	0



Ryc. 1. Model fizjologicznej aktywności fitochromu nieodwracalnego (P_n). Hipotetyczne przemiany różnych form fitochromu w trakcie indukcyjnego fotoperiodu. P_{frI} -labilny fitochrom w formie P_r ; P_{frI} -labilny fitochrom w formie P_{fr} ; P_{frII} -stabilny fitochrom w formie P_{fr}

Fig. 1. The model of physiological activity of irreversible phytochrome (P_n). Hypothetical transformations of different forms of phytochrome during the inductive photoperiod. P_{frI} -labile phytochrome in P_r form; P_{frI} -labile phytochrome in P_{fr} form; P_{frII} -stable phytochrome in P_{fr} form

tej formy poprzez transformację nieodwracalną a tempem usuwania lub zużywania jej przez roślinę.

4. Synteza fitochromu stabilnego P_{frII}

Przytoczone powyżej dane eksperymentalne dotyczące reakcji zależnych od P_{fr} sugerują, że sygnałem uruchamiającym syntezę fitochromu stabilnego P_{frII} może być fotokonwersja labilnego fitochromu P_{frI} do P_{frII} . Nie można jednak również wykluczyć, że powstający z P_{frI} fitochrom nieodwracalny (P_n) jest bezpośrednim czynnikiem uruchamiającym syntezę P_{frII} .

5. Fotokonwersja P_{frII} do P_{frI} i akumulacja tej formy fitochromu (ze względu na jej molekularną stabilność). Proces ten zależy od natężenia i składu spektralnego światła.

Tak więc w fazie jasnej indukcyjnego fotoperiodu zachodzą dwa równoległe procesy akumulacji różnych form fitochromu, oba zależne od składu spektralnego i natężenia światła: (1) akumulacja fitochromu nieodwracalnego P_n oraz (2) akumulacja P_{frII} (Ryc. 1A.). Wysoki poziom P_n hamuje w tym okresie indukcję kwitnienia.

W indukcyjnej długiej fazie ciemnej brak fototransformacji P_{frI} do P_{frII} powoduje nagromadzenie się P_{frI} oraz stopniowy zanik P_n (Ryc. 1B.).

Indukcja kwitnienia zaistnieje więc wtedy, gdy przez pewien krytyczny okres czasu (CNL)

w trakcie długiej indukcyjnej nocy promowane przez P_{frII} reakcje indukcyjne nie zostaną zablokowane przez P_n . Przerwanie indukcyjnej nocy czerwienią hamuje kwitnienie poprzez powtórzną produkcję fitochromu nieodwracalnego P_n .

Hipoteza fitochromu nieodwracalnego tłumaczy więc wzajemne współzależności między różnymi formami fitochromu w inicjacji indukcji fotoperiodycznej. Aby jednak indukcja fotoperiodyczna, która ma miejsce w liściach lub liściach, doprowadziła do ewokacji i morfogenezy kwiatu w wierzchołku wzrostu, musi zaistnieć przekazanie informacji w postaci łańcucha transdukcji i powstanie określonych czynników kwitnienia.

HIPOTEZA CZYNNIKÓW KWITNIENIA

Model ten [5, 6] opiera się na następujących postulatach:

I. Syntezę fitochromu stabilnego P_{frII} uruchamia pojawienie się aktywnej formy fitochromu labilnego P_{frI} (P_{frI} lub P_n)

II. Aktywna forma fitochromu stabilnego P_{frII} (P_{frII} lub homodimer $P_{fr}:P_{fr}$) odpowiedzialna jest za kreację stymulującego u SDP kwitnienie czynnika Ω .

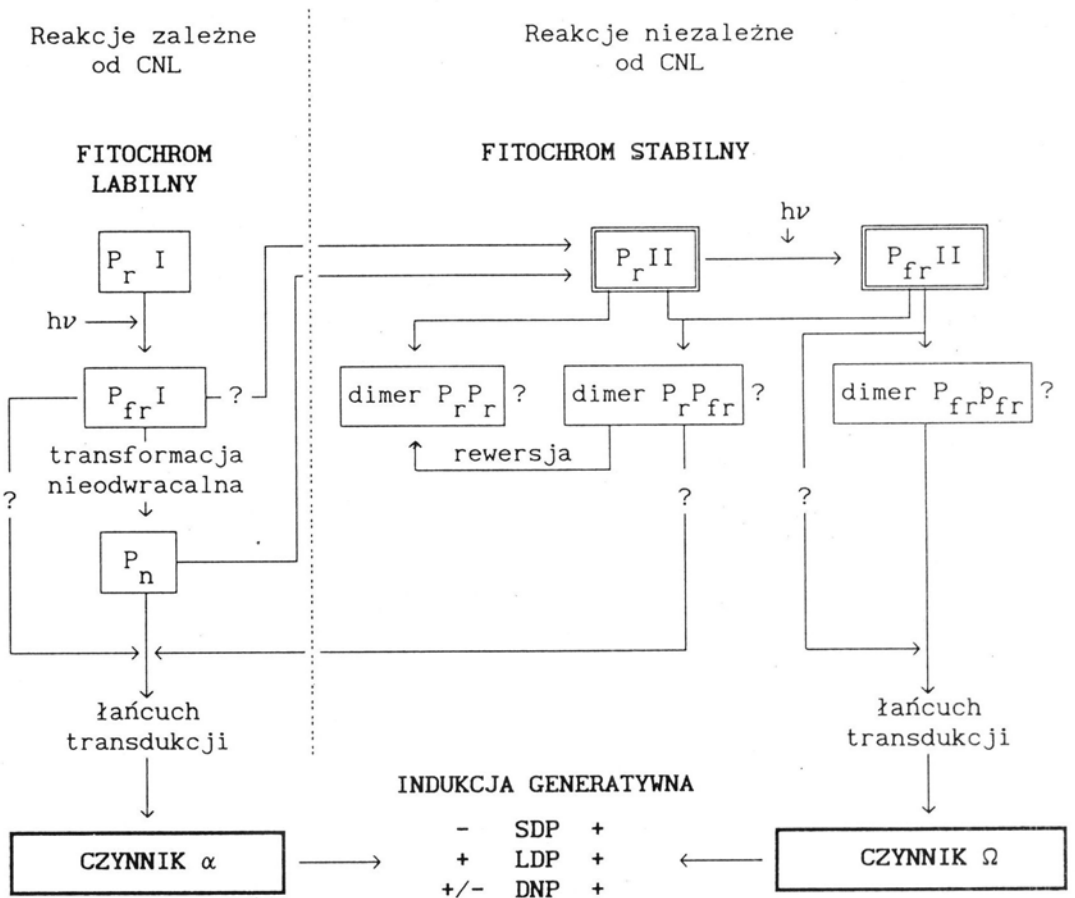
III. Aktywna forma fitochromu labilnego lub krótkotrwała frakcja fitochromu stabilnego (heterodimer $P_r:P_{fr}$) powoduje powstanie czynnika α .

W świetle powyższych postulatów oraz hipotezy fitochromu nieodwracalnego rysuje się następujący obraz indukcji generatywnej roślin dnia krótkiego (SDP) (Ryc. 2):

W trakcie fazy jasnej na skutek nadprogowego poziomu P_{frII} , syntetyzowany (aktywowany) jest czynnik Ω , jednakże podlega on jednocześnie dezaktywacji poprzez obecny na świetle czynnik α – roślina pozostaje w stanie nieindukcyjnym. Z początkiem nocy, wraz z zanikiem aktywności czynnika α wzrasta aktywność czynnika Ω . Jeżeli faza ciemna będzie dostatecznie długa (CNL), to rośliny zostaną trwale zaindukowane.

Reasumując, w myśl tej hipotezy, indukcję generatywną roślin dnia krótkiego wywołuje aktywność czynnika Ω przez pewien krytyczny okres czasu.

F O T O P E R I O D



Ryc. 2. Model fitochromowej kontroli fotoperiodycznej indukcji kwitnienia. CNL – krytyczna długość nocy.

Fig. 2. The model of phytochrome control of photoperiodic flower induction. CNL – critical night length.

Należy podkreślić, że czynniki α i Ω są tylko hipotetyczne, a ich natura jest obecnie całkowicie nieznana.

W przedstawionym modelu bezpośredni pomiar czasu związany jest raczej z tempem akumulacji odpowiednich form fitochromu, a w konsekwencji czynników α i Ω . Natomiast włączenie się całego procesu fotoindukcji w endogeny rytm rośliny odbywać się może poprzez cykliczne zmiany wrażliwości na oba hipotetyczne czynniki kwitnienia.

Rola fitochromu w zjawiskach fotoperiodycznej indukcji kwitnienia wiąże się więc z wy-

tworzeniem w liściach odpowiednich czynników kwitnienia. Wzajemne relacje czynników α i Ω prowadzą z kolei do uruchomienia reakcji związanych z powstawaniem oraz następnym transportem z liści do wierzchołków wzrostu określonych indukatorów kwitnienia [23]. Fitochrom występuje jednakże nie tylko w liściach, ale również w wierzchołkach wzrostu, a nawet w poszczególnych częściach kwiatu. Tak więc nie można wykluczyć kontroli fitochromu również na poziomie ewokacji i morfogenezy kwiatu. Zagadnienia te są jednak obecnie całkowicie nieznane.

LITERATURA

- [1] ARAMENDIA P. F., RUZICKA B. P., BRASLAVSKY S. E., SCHAFFNER K. 1987. Laser flash photolysis of 124 kDa oat phytochrome in H₂O and D₂O solutions: formation and decay of the I₇₀₀ intermediates. *Biochemistry* **26**: 1418–1422.
- [2] BROCKMANN J., SCHÄFER E. 1982. Analysis of P_{fr} destruction in *Amaranthus caudatus* L. – Evidence for two pools of phytochrome. *Photochem. Photobiol.* **35**: 355–558.
- [3] BROCKMANN J., RIEBLE S., KAZARINOVA-FUSKHANSKY N., SEYFRIED N., SCHÄFER E. 1987. Phytochrome behaves as a dimer in vivo: opinion. *Plant Cell Environ.* **10**: 105–111.
- [4] CYMERSKI M., KOPCEWICZ J. 1994. Labile phytochrome and photoperiodic flower induction in *Pharbitis nil* Choisy. The irreble phytochrome hypothesis. *Acta Soc. Bot. Polon.* **63**: 275–279.
- [5] CYMERSKI M., KOPCEWICZ J. 1994. KCN blocks the inhibiting effect of red light break on the flowering of *Pharbitis nil*. *J. Plant Physiol* **145**: 189–190.
- [6] FREDERICQ H. 1964. Conditions determining effects of far-red and red irradiations on flowering response of *Pharbitis nil*. *Plant Physiol.* **39**: 812–816.
- [7] FRIEND D. J.C. 1975. Light requirements for photoperiodic sensitivity in cotyledons of dark-grown *Pharbitis nil*. *Physiol. Plant.* **32**: 286–296.
- [8] FURUYA M., HOPKINS W. G., HILLMAN W. S. 1965. Effect of metal complexing and sulfhydryl compounds on nonphotochemical phytochrome changes in vivo. *Arch. Biochem. Biophys.* **112**: 180–186.
- [9] FURUYA M. 1989. Molecular properties and biogenesis of phytochrome I and II. *Adv. Biophys.* **25**: 3–167.
- [10] FURUYA M., ITO N., TONIZAWA K., SCHÄFER E. 1991. A stable phytochrome pool regulates the expression of the phytochrome I gene in pea seedlings. *Planta* **183**: 218–221.
- [11] GARNER W. W., ALLARD H. A. 1920. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. *J. Agric. Res.* **18**: 553–606.
- [12] GOTTMANN K., SCHÄFER E. 1983. Analyses of phytochrome kinetics of light-grown *Avena sativa* L. seedlings. *Planta* **157**: 392–400.
- [13] HOLLAND R. W.K., VINCE-PRUE D. 1971. Floral initiation in *Lolium temulentum* L.: the role of phytochrome in the responses to red and far-red light. *Planta* **98**: 232–243.
- [14] INOUE Y. 1987. Phototransformation pathway of „native” pea phytochrome. W: FURUYA M. (red.), *Phytochrome and Photoregulation in Plants*. Academic Press, London. ss: 117–126. ISBN 0–12–269970-X.
- [15] KADOTA A., INOUE Y., FURUYA M. 1986. Dichroic orientation of phytochrome intermediates in the pathway from P_r to P_{fr} as analyzed by double laser flash irradiations in polarotropism of *Adiantum protonemata*. *Plant Cell Physiol.* **27**: 867–873.
- [16] KIMURA K. 1964. Floral initiation in *Pharbitis nil* subjected to continuous illumination at relatively low temperatures. III. Effect of intensity and quality of light. *Bot. Mag. (Tokyo)* **77**: 115–121.
- [17] KIMURA K. 1966. Floral initiation of *Pharbitis nil* at low temperatures. *Ber. Ohara Inst. Landwirtschaft. Biol. Okayama* **2**: 39–88.
- [18] KING R. W. 1974. Phytochrome action in the induction of flowering in short-day plants: effect of photoperiod quality. *Aust. J. Plant Physiol.* **1**: 445–457.
- [19] KING R. W., VINCE-PRUE D. 1978. Light requirement, phytochrome and photoperiodic induction of flowering of *Pharbitis nil* Choisy. I. No correlation between photomorphogenetic and photoperiodic effects of light pre-treatment. *Planta* **141**: 1–7.
- [20] KNAPP P. H., SAWHNEY S., GRIMMETT M. M., VINCE-PRUE D. 1986. Site-of perception of the far-red inhibition of flowering in *Pharbitis nil* Choisy. *Plant Cell Physiol.* **27**: 1147–1152.
- [21] KOPCEWICZ J., CENTKOWSKA G. 1980. Fizjologiczne aspekty kwitnienia roślin. *Wiad. Bot.* **24**: 269–278.
- [22] KOPCEWICZ J., CYMERSKI M., MADELA K. 1983. Influence of growth regulators and respiration inhibitors on dark transformation of phytochrome in coleoptiles of oat seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol.* **52**: 139–148.
- [23] KOPCEWICZ J., KULIKOWSKA-GULEWSKA H., CYMERSKI M. 1993. Fotoperiodyczna indukcja kwitnienia roślin. *Wiad. Bot.* **37**: 73–85
- [24] LUMSDEN P. 1991. Circadian rhythms and phytochrome. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**: 351–371.
- [25] LUMSDEN P., THOMAS B., VINCE-PRUE D. 1982. Photoperiodic control of flowering in dark-grown seedlings of *Pharbitis nil* Choisy. The effect of skeleton and continuous light photoperiods. *Plant Physiol.* **70**: 277–282.
- [26] OGAWA Y., KING R. W. 1990. The inhibition of flowering by non-induced cotyledons of *Pharbitis nil* *Plant Cell Physiol.* **31**: 129–135.
- [27] OTTO V., MÖSINGER E., SAUTER M., SCHÄFER E. 1983. Phytochrome control of its own synthesis in *Sorghum vulgare* and *Avena sativa*. *Photochem. Photobiol.* **38**: 639–700.
- [28] PRATT L. H. 1982. Phytochrome: the protein moiety. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **33**: 557–582.
- [29] PRATT L. H., CORDONIER M.-M., WANG Y. C., STEWARD S. J., MOYER M. 1991. Evidence for three phytochrome in *Avena*. W: THOMAS B. and JOHNSON C. B. (red.), *Phytochrome properties and biological action*, NATO ASI Series H: *Celle Biology*, **50**: 39–55.
- [30] QUAIL P. H., GATZ C., HERSHEY H. P., JONES A. M., LISSEMORE J. L., PARKS B. M., SHARROCK R. A. 1987. Molecular biology of phytochrome. W: Furuya M (red.), *Phytochrome and photoregulation in plants*, Academic Press, London. ss: 23–27.
- [31] SALISBURY B. 1967. Physiological evidence relating to the flowering hormone. *An. N. Y. Acad. Sc.* **144**: 295–304.
- [32] SCHARROCK R. A., QUAIL P. H. 1989. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: structure, evolution and differential expression of plant regulatory photoreceptor family. *Genes Dev.* **3**: 1745–1757.

- [33] TAKIMOTO A., HAMNER K. C. 1964. Effect of temperature and preconditioning on photoperiodic response of *Pharbitis nil*. *Plant Physiol.* **39**: 1024–1030.
- [34] TAKIMOTO A., HAMNER K. C. 1965. Effect of far-red light and its interaction with red light on the photoperiodic response of *Pharbitis nil*. *Plant Physiol.* **40**: 859–864.
- [35] TAKIMOTO A., SAJI H. 1984. A role of phytochrome in photoperiodic induction: two-phytochrome-pool theory. *Physiol. Plant* **61**: 675–682.
- [36] THOMAS B. 1991. Phytochrome destruction. W: THOMAS B., JOHNSON Ch. B. (red.), *Phytochrome properties and biological action*. Springer Verlag Berlin ss. 307–311.
- [37] THOMAS B. 1991. Phytochrome and photoperiodic induction. *Physiol. Plant.* **81**: 571–577.
- [38] THOMAS B. 1993. Internal and external controls of flowering. W: JORDAN B. J. (red.), *The molecular biology of flowering*. ss: 1–27.
- [39] VAN der WOUDE W. J. 1985. A dimeric mechanism for the action of phytochrome: evidence from photothermal interactions in lettuce seed germination. *Photochem. Photobiol.* **42**: 665–667.
- [40] VAN der WOUDE W. J. 1987. Application of the dimeric model of phytochrome action to high irradiance responses. W: FURUYA M. (red.), *Phytochrome and photoregulation in plants*. Academic Press, London. ss: 249–258.
- [41] VINCE-PRUE D. 1975. Photoperiodism in plants. McGraw-Hill, Maidenhead". ss. 121–126.
- [42] VINCE-PRUE D., GRESSEL J. 1985. *Pharbitis nil*. W: HALEVY A. H. (red.), *Handbook of flowering*. Boca Raton: CRC, **4**: 47–81.
- [43] VINCE-PRUE D., TAKIMOTO A. 1987. Roles of phytochrome in photoperiodic floral induction. W: FURUYA M. (red.), *Phytochrome and photoregulation in plants*. Academic Press, London. ss: 259–278.
- [44] YAMAMOTO K. T. 1990. Photoreversible absorption change and domain structure of phytochrome. *Bot. Mag. Tokyo* **103**: 469–491.