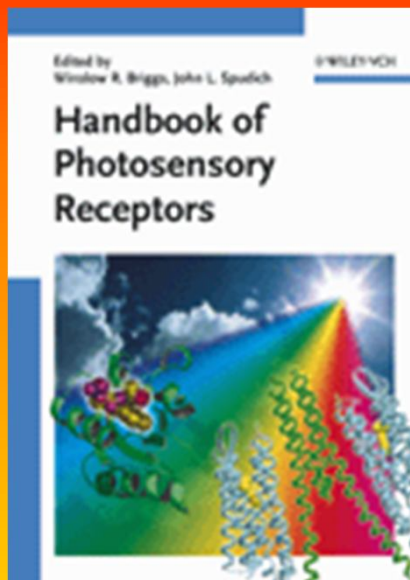
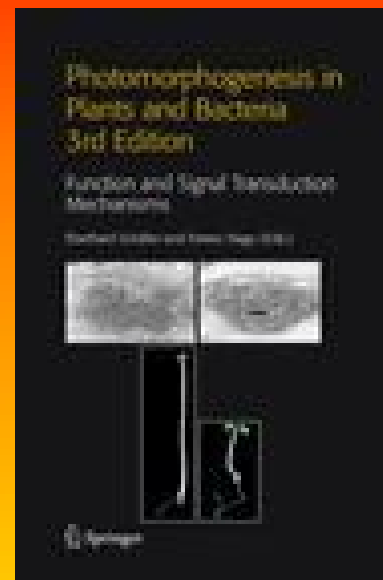


4) Role světla a fytochromů ve vývoji a růstu rostlin

- a) Vlastnosti a lokalizace fytochromů
- b) Reakce rostlin zprostředkované fytochromy



Briggs WR, Spudich JL (eds) (2005)
Handbook of Photosensory
Receptors, Wiley-VCH



Schäfer E, Nagy F (eds) (2006)
Photomorphogenesis in Plants
and Bacteria, 3rd ed., Springer



Whitelam GC, Halliday KJ (eds) (2007)
Light and Plant Development
Blackwell Publishing

**Růst ve tmě
(etioloizovaný růst, skotomorfogeneze)**

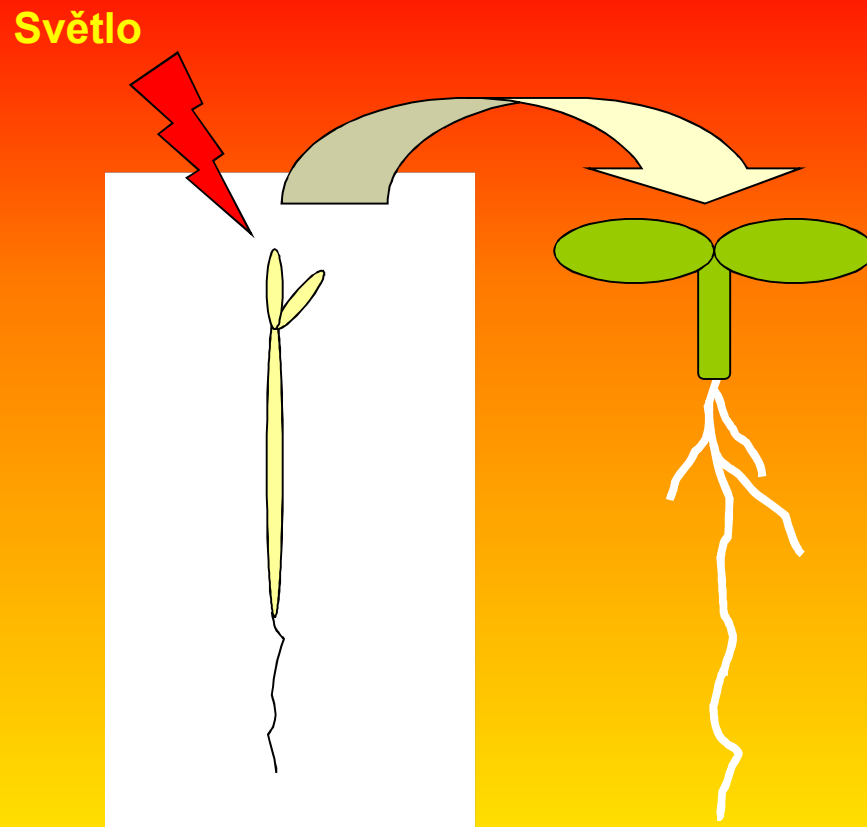


**Růst na světle
(fotomorfogeneze)**



Fotomorfogeneze = světlem indukované změny ve vývoji a růstu rostliny.

Proces, při kterém světlo jako signál změni vývoj rostliny tak, aby mohla pro svůj další růst využít světlo jako energii.



Základní fotomorfogenní reakce:

- inhibice prodlužování
- stimulace syntézy chlorofylu
- stimulace růstu listu
- regulace klíčení

Při fotomorfogenezi je světlo zachycováno pigmenty, které jsou součástí **fotoreceptorů**:

- **červeného světla: fytochromy A až E (phytochromes)**
- **modrého světla a UV-A: kryptochromy a fototropiny (cryptochromes, phototropins)**

a) Vlastnosti a lokalizace fytochromů

Fytochrom = proteinový pigment modré barvy identifikován v r. 1959

Reakce rostlin indukované fytochromy:

- stimuluje klíčení
- stimuluje de-etiolizaci (např. otevírání listů)
- stimuluje tvorbu listových primordií a růst listů
- inhibuje prodlužování

TABLE 17.1

Typical photoreversible responses induced by phytochrome in a variety of higher and lower plants

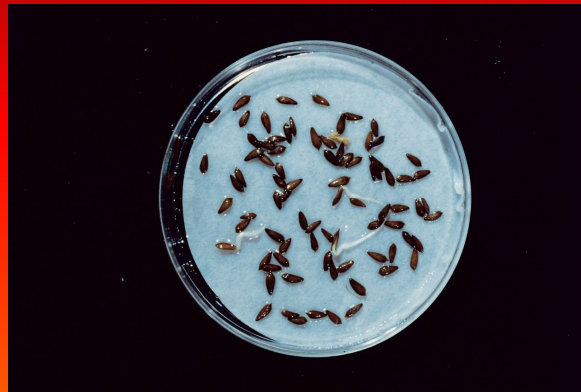
Group	Genus	Stage of development	Effect of red light
Angiosperms	<i>Lactuca</i> (lettuce)	Seed	Promotes germination
	<i>Avena</i> (oat)	Seedling (etiolated)	Promotes de-etiolation (e.g., leaf unrolling)
	<i>Sinapis</i> (mustard)	Seedling	Promotes formation of leaf primordia, development of primary leaves, and production of anthocyanin
	<i>Pisum</i> (pea)	Adult	Inhibits internode elongation
	<i>Xanthium</i> (cocklebur)	Adult	Inhibits flowering (photoperiodic response)
Gymnosperms	<i>Pinus</i> (pine)	Seedling	Enhances rate of chlorophyll accumulation
Pteridophytes	<i>Onoclea</i> (sensitive fern)	Young gametophyte	Promotes growth
Bryophytes	<i>Polytrichum</i> (moss)	Germling	Promotes replication of plastids
Chlorophytes	<i>Mougeotia</i> (alga)	Mature gametophyte	Promotes orientation of chloroplasts to directional dim light

PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Table 17.1 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

Přijímání světla fytochromy
a přenos signálu se liší
v různých orgánech



Efekt červeného světla (R; 650-680 nm) je eliminován červeným světlem o větší vlnové délce (FR; 710-740 nm)



Dark



R



R

FR



R

FR

R



R

FR

R

FR

→ 2 hypotézy

2 hypotézy vysvětlující R – FR reverzibilitu

- 1) Existence dvou pigmentů – pro R a FR – antagonisticky regulují klíčení
- 2) Existence jediného pigmentu – mění svoji formu z R-absorbující na FR-absorbující

Hypotéza potvrzena. Reverzibilní vlastnosti potvrzeny *in vitro*



3 následující témata

- 1) Fotoreverzibilita a její vztah k reakci fytochromu
- 2) Struktura fytochromu, lokalizace, konformační změny
- 3) Geny, kódující fytochromy a jejich funkce ve fotomorfogenezi

1) Fotoreverzibilita a její vztah k reakci fytochromu

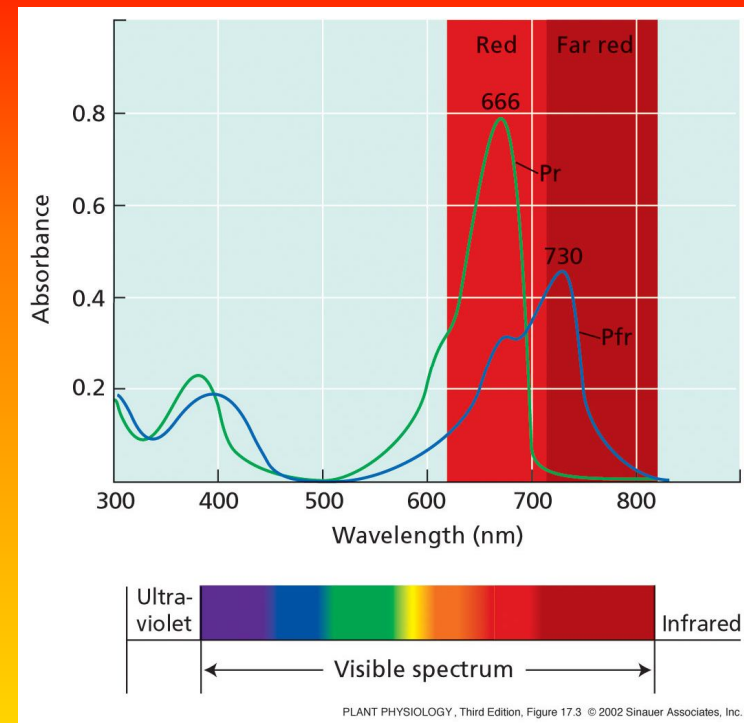


Forma fytochromu absorbující R: **Pr**

Pr syntetizován ve tmě *de novo*



Fotostacionární stav: **Pr** : **Pfr** = **98%** : **2%**



[Pfr] ≅ [fyziologická reakce]

[Pr] ≠ [fyziologická reakce]

Je Pfr fyziologicky aktivní forma fytochromu??



Studium mutantů (*hy2* – fytochrom deficitní)

Pr ↓ ⇓ Pfr ↓

Pr fyziologicky aktivní



Mutanti s Pr deficitem = krátký vzrůst



Mutanti s Pr deficitem = dlouhý vzrůst



Pfr fyziologicky aktivní

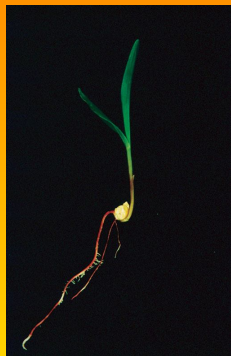


WT



Tma = prodlužování (stimulace)

Pr ↑ → Pfr ↓



Světlo = zkracování (inhibice)

Pr ↓ → Pfr ↑

Pfr je fyziologicky aktivní forma fytochromu => absence Pfr způsobuje neschopnost rostliny reagovat na světlo

2) Stavba fytochromu

Fytochrom = rozpustný protein, ~ 250 kDA, 2 podjednotky = dimer

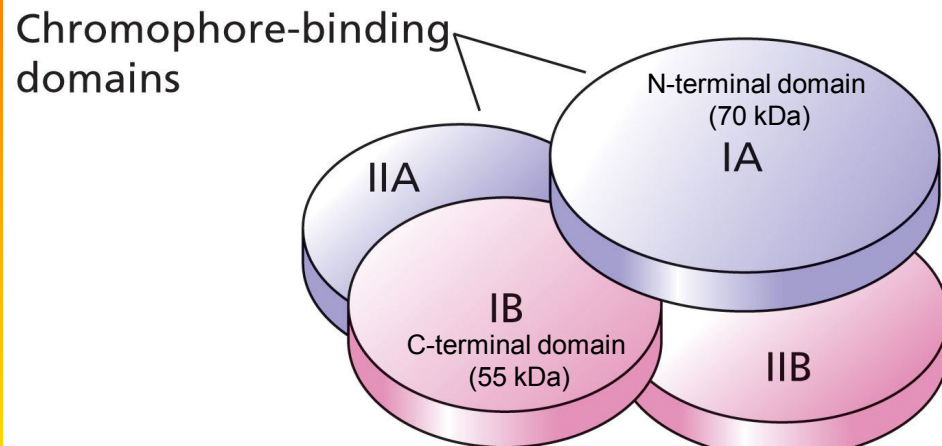
Fytochrom = chromofor + apoprotein
 (pigment) (polyptid, 125 kDa)

Vyšší rostliny:

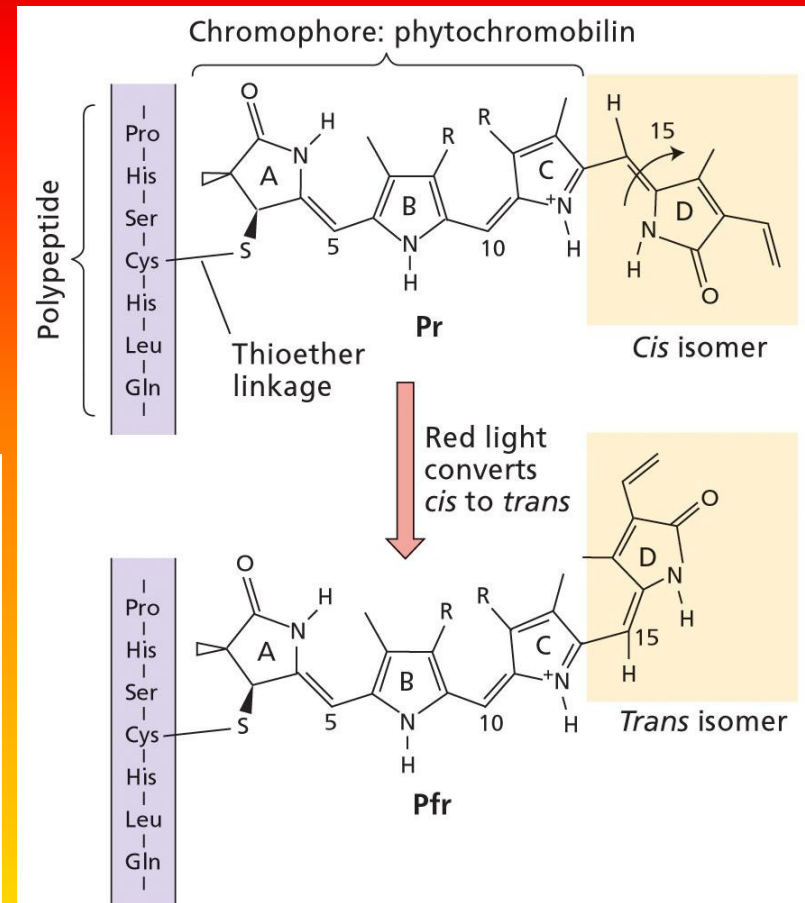
Chromofor = lineární tetrapyrrol = fytochromobilin

Fytochromobilin + apoprotein = holoprotein

Dimer fytochromu



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 17.5 © 2002 Sinauer Associates, Inc.



PLANT PHYSIOLOGY, Third Edition, Figure 17.4 © 2002 Sinauer Associates, Inc.

3) Geny kódující fytochromy

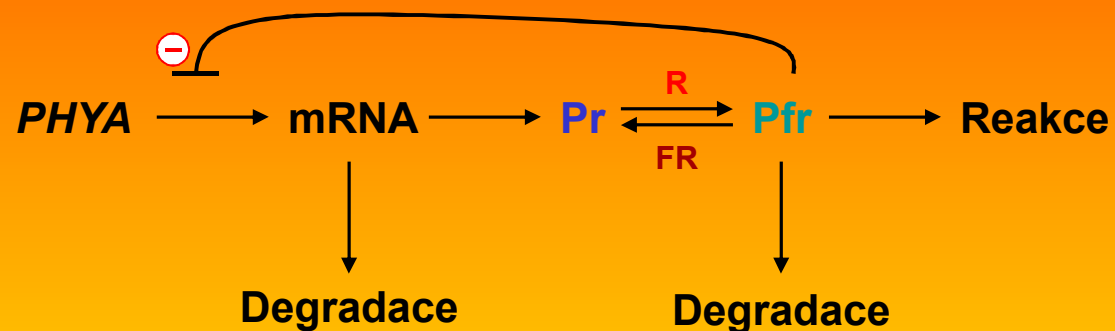
Typ I **PHYA** Typ II **PHYB**
PHYC
PHYD
PHYE

Konvence:

PHYA = apoprotein

phyA = celý fytochrom = apoprotein + chromofor

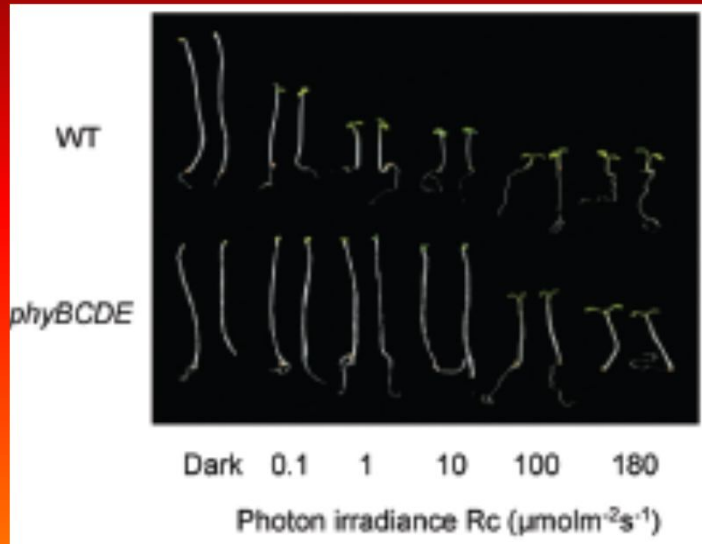
PHYA – exprese inhibována světlem => transkripčně aktivní v etiolizovaných rostlinách (jednoděložné)



❖ dvouděložné – degradace Pfr

Update 2007

Franklin KE, Whitela GC (2007) Plant Sign Behav 2: 1-3



Analýza quadruple mutanta při $160 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
phyBphyCphyDphyE – de-etiolizace a vývoj
 rostliny až do kvetení



Při vysokých ozářeních (nad $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$):

- phyA není degradován
- phyA funguje jako světelný senzor

Update 2010

Franklin KE, Whitela GC (2007) Plant Sign Behavior 2: 1-3

Analýza quintuple mutanta u *Arabidopsis* (*phyAphyBphyCphyDphyE*):
 fytochromy nejsou jedinými receptory červeného světla, ale rostlina
 bez fytochromů inkubovaná na RL zastavuje svůj růst brzy po vývoji
 děloh; modré světlo přijímané kryptochromy tuto blokádu vývoje
 uvolňuje.

PHYB - E – exprese není ovlivňována světlem => transkripčně aktivní v etiolizovaných
 i zelených rostlinách; proteiny phyB - E jsou stabilnější

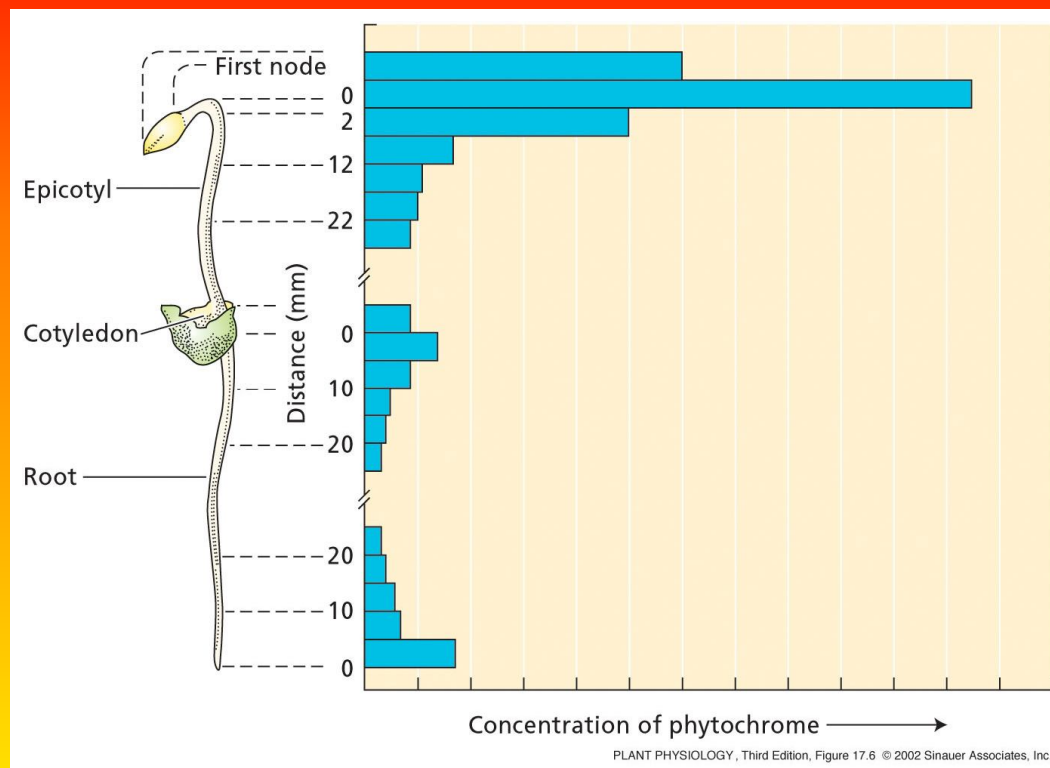


Podle: Taiz L, Zeiger E (2002) Plant physiology, 3rd ed.

Lokalizace fytochromů v buňkách a pletivech

Znalost lokalizace fytochromů napovídá o jejich funkcích

- Spektrofotometricky – etiolizované rostliny
- Vizualizace genové exprese pomocí reportérového genu *GUS*



Konstrukt

Promotor *PHYA*

GUS



Transformace rostlin



Sledování exprese *PHYA*
v buňkách a pletivech

b) Reakce rostlin zprostředkované fytochromy

- 1) Rychlé biochemické reakce
- 2) Pomalejší morfologické změny (+ pohyb a růst)

Lag fáze = čas mezi stimulací světlem a pozorovatelnou reakcí

Krátká – několik minut (zvětšování a smršťování buněk)

Dlouhá – několik týdnů (kvetení)

Délka lag fáze pomáhá odhadovat druh biochemické reakce

Únik z fotoreverzibility

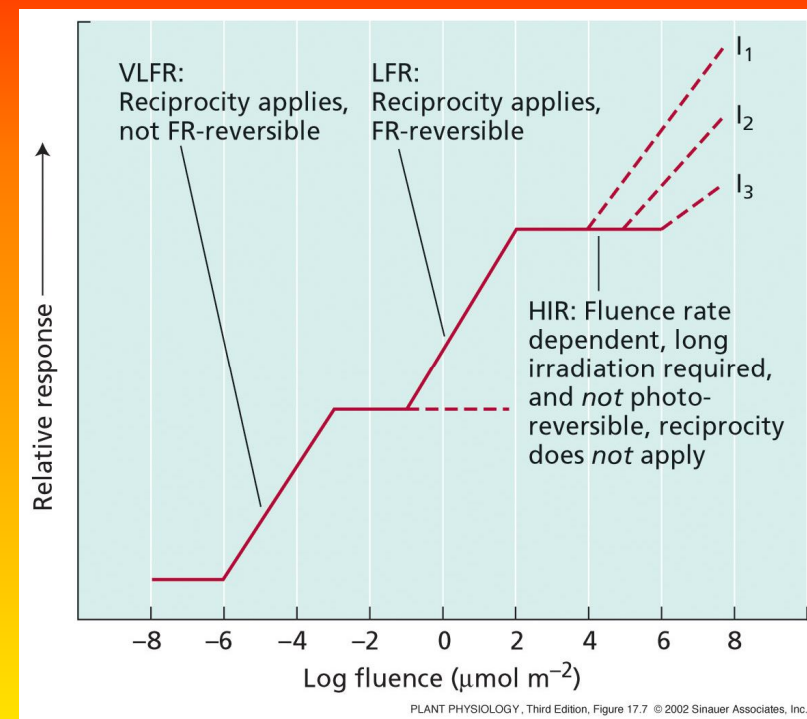
Do určité doby po indukci reakce červeným světlem může FR zvrátit zpět tuto reakci. Po této době již k reverzi reakci nemůže dojít (biochemický model).

Ozářenost (fluence, protonový proud) = počet fotonů dopadajících na jednotku plochy ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$)

Ozářenost za časovou jednotku (irradiance, fluence rate) = počet fotonů dopadajících na jednotku plochy za jednotku času ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)

Rozdělení reakcí podle rozsahu ozáření, které ji vyvolávají:

- Very-low-fluence responses (VLFRs)**
(reakce k velmi slabé ozáření)
- Low-fluence responses (LFRs)**
(reakce k nízké ozáření)
- High-irradiance responses (HIRs)**
(reakce k vysoké ozáření)



a) Very-low-fluence responses (VLFRs) (reakce k velmi slabé ozáření)

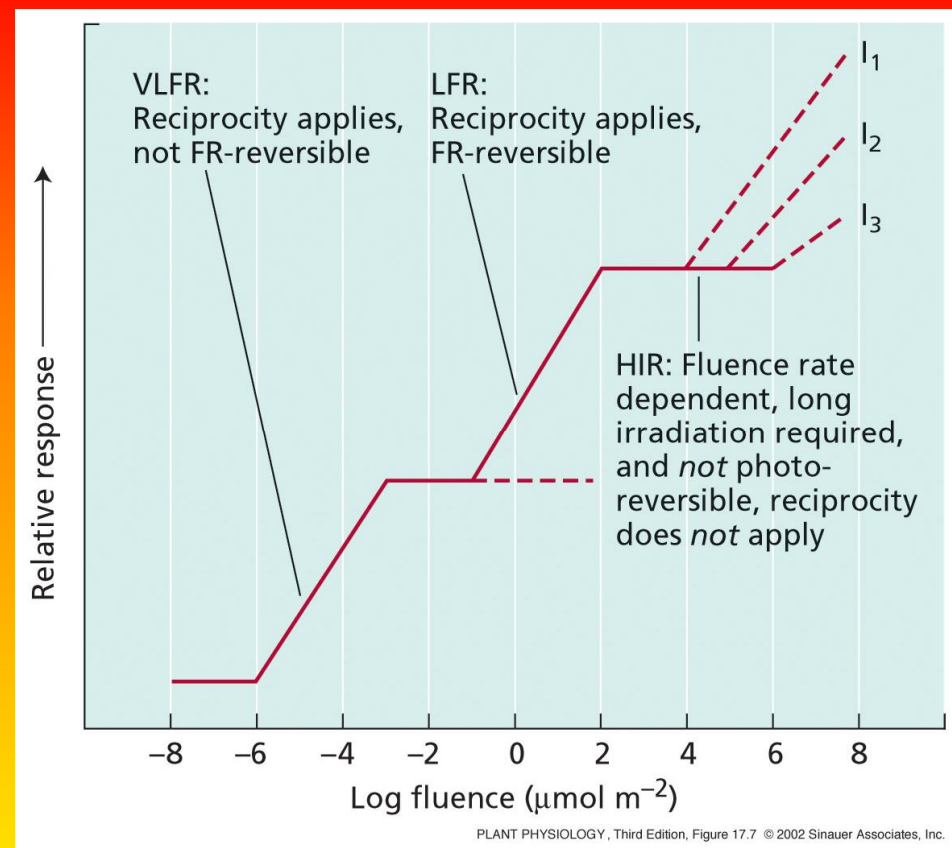
Indukované ozáření: $0.0001 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$; saturace při $0.05 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$

Není reverzibilní FR

RL konvertuje Pr na Pfr. Aby došlo k indukci VLFR, musí dojít ke konverzi pouze méně než 0.02% Pr na Pfr. FR, které eliminuje vliv RL, konvertuje max. 98% Pfr na Pr. Proto zbývá 2% fytochromu ve formě Pfr. To je mnohem více než je 0.02%, tedy mnohem více než je potřeba k indukci VLFR.

Neboli: FR není schopno snížit hladinu Pfr pod 0.02% => FR není schopno inhibovat VLFR.

- Stimulace růstu koleoptilu
- Inhibice růstu mezokotylu
- Stimulace klíčení *Arabidopsis* semen



b) Low-fluence responses (LFRs) (reakce k nízké ozáření)

Indukované ozáření: $1.0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$; saturace při $1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$

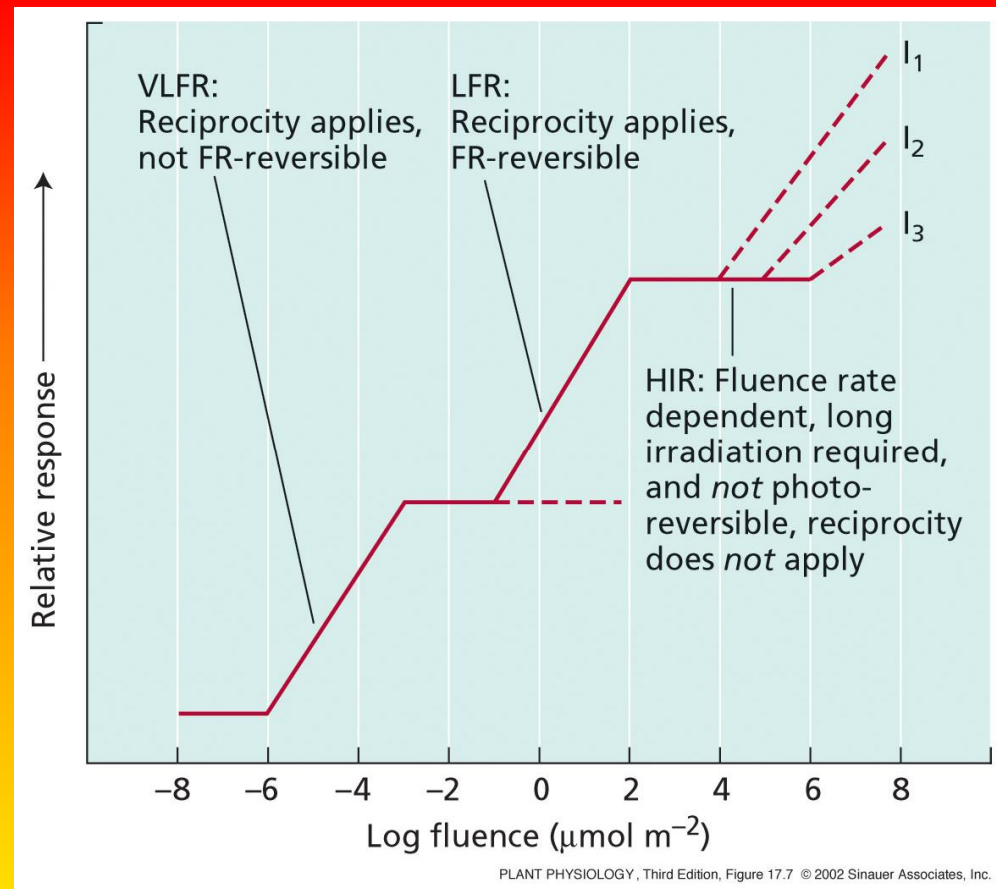
Je reverzibilní FR

- Klíčení semen salátu
- Regulace pohybu listů
- Klíčení semen *Arabidopsis*

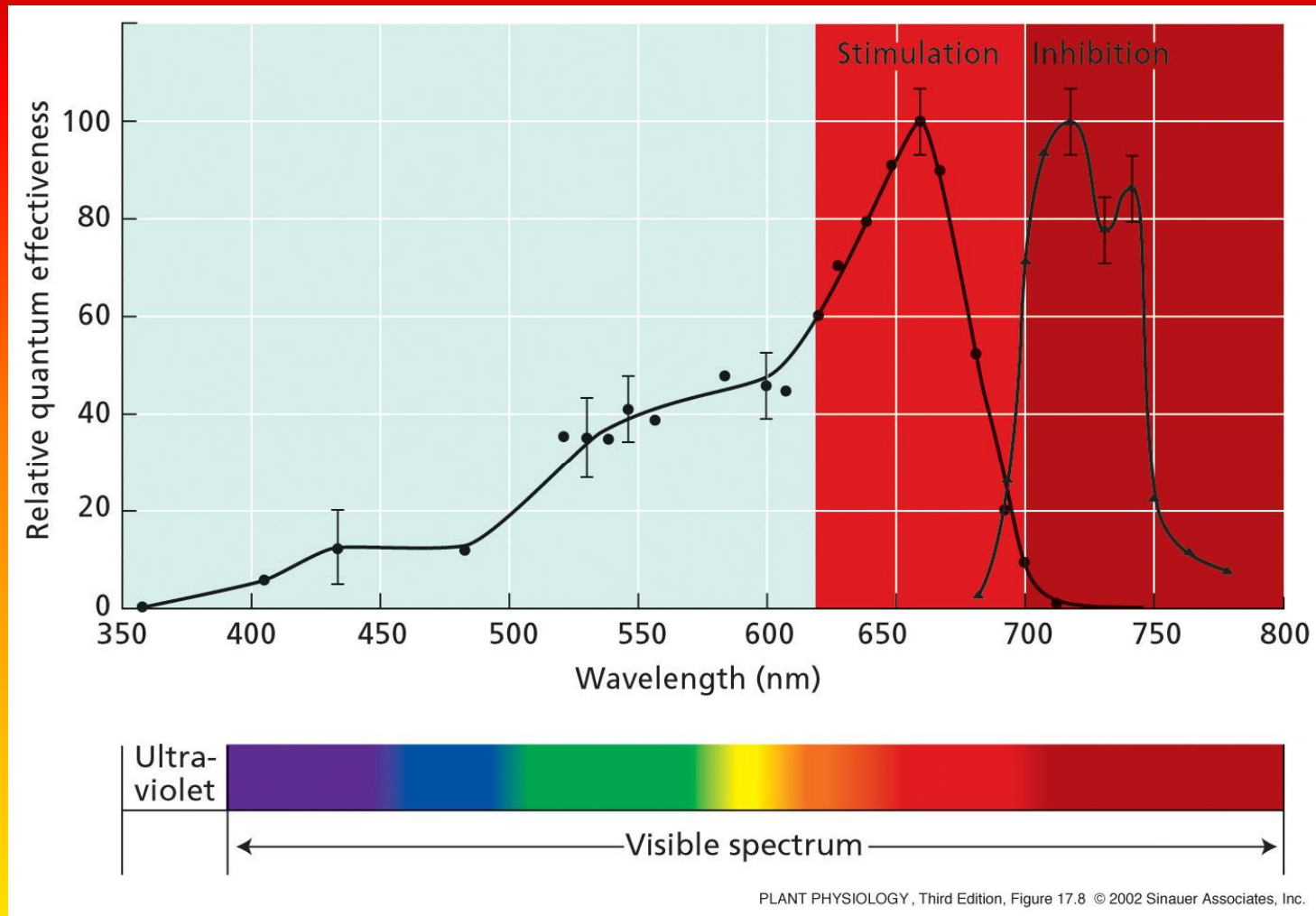
Zákon reciprocity:

Reakce je indukována buď krátkým silným světelným pulsem nebo delším, ale slabším pulsem

VLFR a LFR splňují zákon reciprocity



Akční spektrum LFR pro fotoreverzibilní stimulaci a inhibici klíčení *Arabidopsis* semen



c) High-irradiance responses (HIRs) (reakce k vysoké ozáření)

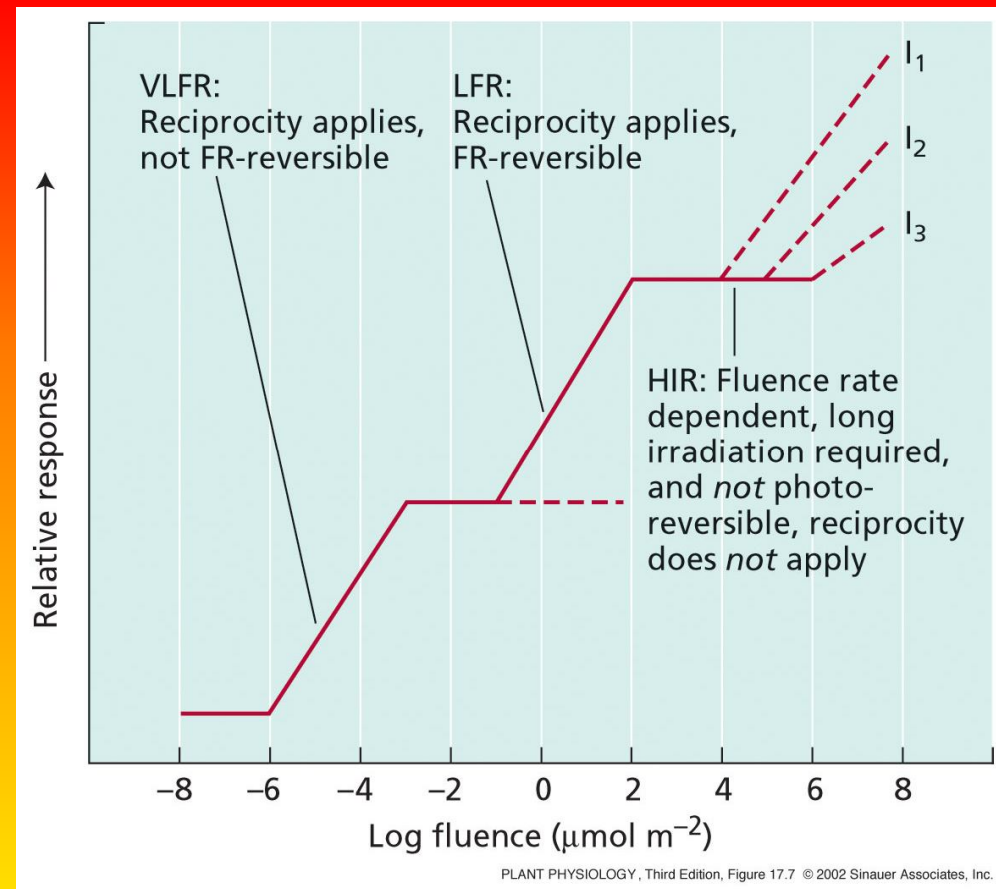
Vyžaduje prodloužení světelného impulsu či kontinuální světlo o vysoké intenzitě

Saturace při 0.1 mmol. m^{-2}

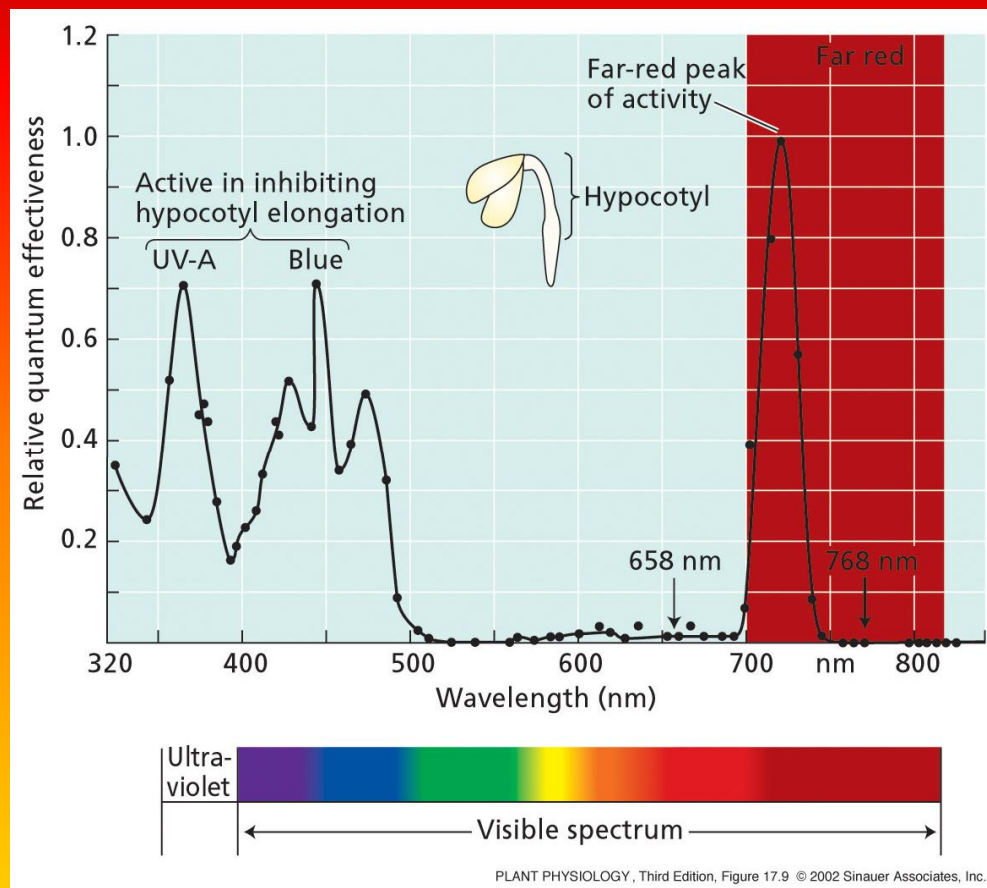
=> není reverzibilní FR

=> nesplňuje zákon reciprocity

- Indukce syntézy antokyaninů
- Inhibice růstu hypokotylu
- Indukce kvetení
- Zvětšování kotyledonů
- Indukce produkce etylénu
- Otevírání apikálního háčku



Akční spektrum HIR pro inhibici prodlužování etiolizovaného hypokotylu



→ **Není pík pro R**

↓
Existence dalšího typu receptoru v oblasti FR pro HIR ?

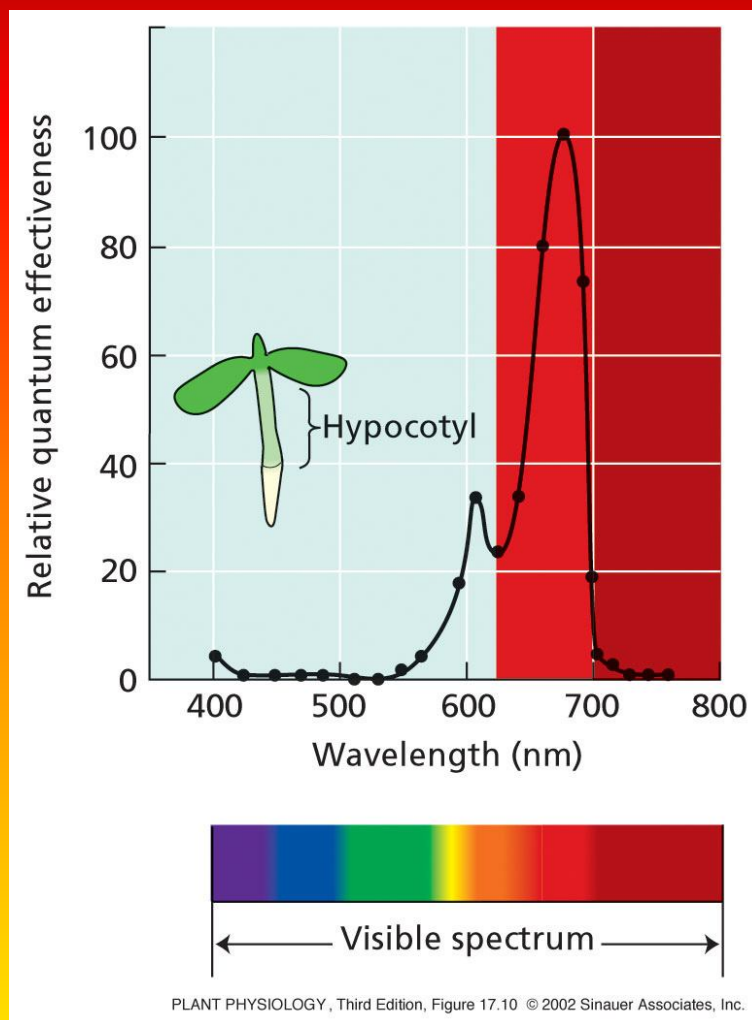
↓
NE, ve FR existuje jeden fytochrom pro HIR

↓
Analýza *hy2* mutanta: fytochrom nefunguje pro HIR v UV-A a B oblastech

↓
Objev receptorů modrého světla CRY1 a CRY2

(Viz přednášky KFZR 5)

Akční spektrum HIR pro inhibici prodlužování zeleného hypokotylu



Reakce rostlin k FR se snižuje tím víc, čím více se rostlina stává zelenější.



Akční spektrum HIR u zelených rostlin se posunuje do červené oblasti.

Ztráta citlivosti zelených rostlin k FR koreluje s úbytkem fytochromu typu I = phyA.



HIR etiolizovaných rostlin je zprostředkována phyA

ALE

HIR zelených rostlin je zprostředkována phytochromem phyB