

## رَبَابِ وَثَانِي

### صِبْغَاتِ التَّشْكِالِ النَّبَاتِيَّةِ

• صِبْغَاتِ التَّشْكِالِ النَّبَاتِيَّةِ



## صبغات التشكل النباتية

- مقدمة • صبغات الأحمر/الأحمر البعيد
- الفايثوكرومات • صبغات الأزرق/وفوق البنفسجية
- الفوتوتروبينات • الكريبتوكرومات
- صبغات أخرى

### المقدمة

تتميز النباتات الخضراء بعمليات تستحثها الإضاءة وتدعى العمليات الأحيائية الضوئية Photo biological processes حيث أنها المسؤولة عن نمو النبات وتشكله في وجود الإضاءة وهو ما يعرف بالتشكل الضوئي photomorphogenesis . تتميز بادرات النبات عند التعرض للإضاءة بزوال الشحوب وانبساط الفلقات والبدء في عملية البناء الضوئي وتثبيت استطالة السويقة تحت الفلقية ويبدأ تميز الخلايا. لكن من ناحية أخرى ، هناك تشكل آخر ضروري لنمو البادرات الجديدة في التربة بعيداً عن الإضاءة للوصول إليها ، ويتميز بشحوب البادرات ووجود الخطاف القمي وعدم تفتح الفلقات للحماية من الاحتكاك المباشر بدقائق التربة وسويقة تحت فلقية مستطيلة للوصول إلى الإضاءة

وهو ما يعرف بالتشكل في الظلام *skotomorphogenesis* ، (Schafer and Bowler, 2002) . إن هذه الفروق بين التشكل في الظلام والتشكل في الإضاءة ناتجة عن تغير في تعبير المورثات والذي تستحثه الإضاءة (Schroeder *et al.*, 2002; Tepperman *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2001).

يحدث النمو في وجود المركبات الوسطية والتي مصدرها الأساسي عملية البناء الضوئي. لا بد للنبات من امتصاص الضوء ولا بد من وجود مركبات معينة في العضو المستقبل لامتصاص الضوء (المستقبلات الضوئية). عند امتصاص الضوء بواسطة المستقبلات الضوئية ، ينشط هذا المستقبل وينشأ عن نشاطه سلسلة متتابعة من التفاعلات الكيميائية تعطي في النهاية الاستجابة الفسيولوجية. هناك صبغات في خلايا النباتات الخضراء تتحكم في معظم استجابات التشكل وآليات مختلفة اكتسبتها النباتات لكي يتأقلم نموها وتكثفها بكفاءة عالية ، باحثة عن الإضاءة وإقتناصها للنمو وموائمة الفصول المناخية السائدة . هذه الآليات تمكن النبات من الإحساس بوجود الضوء وشدته وإتجاه أشعته ومدته بالإضافة إلى التعرف على نوعية الطيف (الطول الموجي) . ونظرا لأن النباتات غير متحركة وتقوم بالبناء الضوئي ، فإنها تظهر مرونة خاصة للنمو والتكيف وفقا لمعلومات الإضاءة في بيئاتها (Quail, 2002b; Neff, et al., 2000) .

### صبغات الأحمر/الأحمر البعيد

#### الفايتوكروومات

#### اكتشاف الفايتوكرووم

منذ بداية فسيولوجيا النبات التجريبية ومنها تجارب ساكس Sachs والدراسات المتأخرة للعالم فيفر Pfeffer بالإضافة إلى أعمال بونر Bonner كان لموضوع تأثير الإضاءة في تكشف النباتات أهمية خاصة وتكونت فكرة أن التشكل الضوئي يعتمد بصورة رئيسية على موجات الضوء المرئي الطويلة. بناء على ذلك ومن نتائج

التجارب التي أجريت في هذا الفرع أقترح كل من بورثويك Borthwick وهيندريكس Hendricks فرضية نظام الأحمر/الأحمر البعيد ما بين عامي ١٩٤٦ و ١٩٥٩م حيث عُرِفَت الصبغة وسميت بواسطة كل من وارن بتلر Warren Butler وهارولد سيجلمان Harold Siegelman باسم صبغة الفايتركروم ، ولزيد من النواحي التاريخية لهذه الصبغة يمكن الرجوع إلى أحد الكتب المتخصصة (Sage, 1992)، على سبيل المثال.

عُرِفَت الفايتركرومات في معظم النباتات كما عُرِفَ جزئي مشابه في عدد من البكتيريا (مثل *Deinococcus* و *Agrobacterium tumefaciens*). ويبدو أن صبغة الفايتركروم توجد في الغشاء الخلوي والنواة والبلاستيدات - إذ أنها تساهم في توجيه البلاستيدات - لكن ليس كل الخلايا النباتية متساوية في ذلك حيث أن وجود الفايتركروم محصور في الخلايا الحارسة في نسيج البشرة ، على سبيل المثال . تعد الفايتركرومات من الصبغات المتأرجحة بين لونين حسب آخر إضاءة تعرضت لها الصبغة، لذلك هناك شكلين ثابتين لكل فايتركروم ؛ الشكل الرئيسي ويبنى في الستوبلازم ورمزه ( $P_r$ ) حيث يمتص الضوء ذو الطول الموجي في منطقة الأحمر (٦٥٠-٦٧٠ نانومتر) ليتحول إلى الشكل الثاني ورمزه ( $P_{fr}$ ) والذي يمتص الضوء قرب الأحمر البعيد (٧٠٥-٧٤٠ نانومتر) ليعود إلى الشكل الأول ( $P_r$ ) [انظر المخطط في الشكل رقم (١، ٣)]. إن الشكل الفعال فسيولوجياً والذي يستحث الإستجابة (تنشيط أو تثبيط) هو الشكل الثاني ( $P_{fr}$ ). وللمحافظة على ثبات وألفة الفايتركرومات يبدو أن النباتات تستخدم حالات الفسفرة المتغيرة (لبقية حمض السيرين في جزء الفايتركروم البروتيني) حسب حالة الضوء الخارجية وذلك للوصول إلى أعلى حد من استقبال الإضاءة والإستجابة لها (Ryu, et al., 2005).



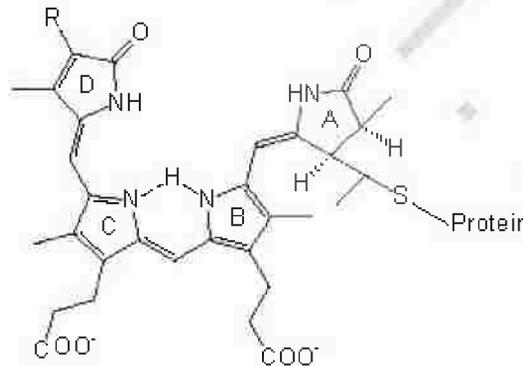
الشكل رقم (١، ٣). رسم توضيحي لأرجح الشكلين من الفايوكروم حسب الإضاءة ومسار التحولات الأخرى.

حسب الرسم التخطيطي الموضح لتحولات صبغة الفايوتوكروم فإن وجود نسبة عالية من الضوء الأحمر في أشعة الشمس أثناء النهار ، يجعل الشكل السائد هو الشكل الفعال ( $P_{fr}$ ) ، لكن في الليل تقل نسبة الضوء الأحمر وبذا يتحول هذا الشكل إلى الشكل الآخر غير الفعال ( $P_r$ ) أو تكسيه كعملية هدم . من ناحية أخرى ، تشير إحدى المراجعات (Chory, et al., 1996) إلى وجود دور للهرمونات النباتية (الجبريلينات والأكسينات والسايوكالينينات) وأحد أشباه الستيروول وهو البراسينوليد *brassinolide* في تكشف النبات المعتمد على الإضاءة للتشابه التام لنتيجة المعاملة بالهرمونات مع عمل الفايوتوكرومات كمستقبلات للإضاءة . ولوحظ في دراسة على استئالة السوقة الجنينية العليا لبادرات نبات الخردل *Sinapis alba* L. أن درجة الحرارة تؤثر في طريقة الاستجابة لكل من نوع وكمية الإضاءة حيث اختلفت الاستجابة عند درجة حرارة ١٠ عنها عند درجة حرارة ٢٥ مما يشير إلى أن الفايوتوكروم يقيس نوعية الضوء فقط

وليس كمية تحت ظروف درجة الحرارة المنخفضة (Wall and Johnson, 1982). ومن البديهي الاعتقاد بأن هناك تكامل لتفاعلات الإشارات من العوامل الداخلية في النبات خاصة الهرمونات النباتية (مثل الأكسينات والسايتركايينات والجبريلينات والإيثيلين) والعوامل الخارجية مثل الإضاءة ودرجة الحرارة والإجهادات غير الأحيائية الأخرى وذلك لتشكيل الصورة النهائية للاستجابة التي تظهر على النمط الظاهري للنبات في البيئات الطبيعية دائمة التغير (Franklin, 2008).

### التركيب الكيميائي للفايوكرومات

الفايوكرومات عبارة عن بروتينات صبغية ثنائية dimeric chromoproteins تتكون من وحدتين متشابهتين تماما ذات وزن جزيئي يتراوح من ١٢٠ إلى ١٢٧ كيلودالتون حسب نوع النبات وقد يطلق عليها أبوفايوكروم apophytochrome. تتكون الوحيدة من سلاسل عديدة الببتيد من تتابع للأحماض الأمينية قدرت من ١١١٠ إلى ١١٧٢ مما يجعلها ضمن أطول سلاسل الببتيدات المعروفة (Quail, 1991). يرتبط بهذا البروتين الحامل الصبغي chromophore برابطة ثيوإثر thioether انظر الشكل رقم (٣.٢) الذي يوضح تركيب الحامل الصبغي.



الشكل رقم (٣.٢). تركيب الحامل الصبغي للفايوكروم.

يتكون الحامل الصبغي من أربع حلقات من البيروول tetrapyrrole المستقيمة (ليست هذه الرباعيات على هيئة حلقة كما في الكلوروفيل) ويكون ارتباطها في منطقة الطرف الأميني من البروتين (Quail, 1997a). أما منطقة الطرف الكربوكسيلي فهي موقع نشاط التكوين الثنائي dimerisation . هناك ثلاث فئات رئيسية من الفايثوكرومات في كاسيات البذور أعطيت الرموز فايثوكروم أ phyA وفايثوكروم ب phyB وفايثوكروم ج phyC . يشفر لهذه الفايثوكرومات الثلاثة مورثات بالرموز نفسها (PHYA و PHVB و PHYC) (Sharrock and Quail, 1989) . يحدث بناء الفايثوكرومات في الظلام للشكل غير الفعال فيسيولوجياً (P<sub>r</sub>) في سيتوبلازم الخلية ، وبعد تعرضه للإضاءة وتحوله إلى الشكل الفعال (P<sub>f</sub>) يبدأ النقل إلى النواة لتكون بقعا مميزة discrete speckles كما في نبات العشب الواعدة (Kircher, et al., 2002) . تتأثر عملية تجزئة الفايثوكرومات بين النواة والسيتوبلازم بنوعية الإضاءة ، ففي شدة الإضاءة العالية-الأحمر يسود فايثوكروم ب phyB بينما في شدة الإضاءة العالية-الأحمر البعيد تكون السيادة لفايثوكروم أ phyA (Schafer and Bowler, 2002) . تشير نتائج البحوث الحديثة أن الاستجابة للضوء تشتمل على تنظيم لعدة آلاف من المورثات ، والمعتقد أن من الأحداث الرئيسية المسيطرة على تعبير هذه المورثات عملية نقل مستقبلات الإضاءة (الفايثوكرومات) إلى النواة وارتباطها بعوامل النسخ ، بالإضافة إلى عملية تكسير المركبات الوسطية الفعالة (Schafer and Bowler, 2002) .

هناك نوعان آخران من الفايثوكرومات في النباتات ذوات الفلقتين هما : فايثوكروم د phyD وفايثوكروم هـ phyE يشفر لهما المورثان (PHYD و PHYE) (Clack et al., 1994) . ومن الأمثلة على ذلك ما وجد في أكثر الأنظمة النباتية المدروسة بدرجة كبيرة (نظام نبات العشب الواعدة *Arabidopsis*) حيث هناك خمسة أنواع من البروتينات الصبغية للفايثوكروم هي ، فايثوكروم أ-هـ (phyA-phyE) ، (Mathews and Sharlock, 1997) . ومن ناحية أخرى ، فالنباتات من ذوات الفلقة الواحدة مثل نبات الأرز لم يسجل به إلا ثلاثة أنواع من الفايثوكرومات هي : فايثوكروم أ-ج (phyA-phyC) .

يلاحظ أنه في نبات الذرة متعدد المجموعات الصبغية polyploidy هناك ستة أنواع من الفايوكروومات هي: فايوكروم أ-١ إلى فايوكروم ج-٢ (phyA1, phyA2, phyB1, phyB2, phyC1 and phyC2) ، والاعتقاد العام أن معظم النباتات تحوي ثلاثة أو أكثر من أنواع الفايوكروم (Mathews and Sharrock, 1997).

من الناحية الوراثية ساهمت البحوث على نبات العشب الواعدة *Arabidopsis* في زيادة المعرفة بالنواحي الجزيئية لدور صبغات الفايوكروم في التشكل النباتي نظرا لأن ما يعرف من النواحي الوراثية في هذا النبات أكثر من أي نظام نباتي آخر (Hudson, 2000). من هنا تميز مجال جديد وهو وراثة طوافر الفايوكروم المعروفة أيضا في نظم نباتية أخرى (Neff, et al., 2000). قد تحدث الطفرة في فئة المورثات للجزء البروتيني من الفايوكروم apoprotein أو في جزء الفايوكرومومويلين phytochromobilin مما يحدث عدم استجابة مهما كانت ظروف الإضاءة. وعلى سبيل المثال تم التعرف على طافرات لأنواع الفايوكروم الموجودة في نبات العشب الواعدة وما يظهر على النمط الظاهري مع تداخل العوامل الأخرى كما في الجدول التالي رقم (٣، ١):

الجدول رقم (٣، ١). أنواع الطافرات (أبوبروتين) والشكل الظاهري المقترن بها (مقتبسة من

Hudson, 2000 عدا الطافر *phyC* فمن Monte, et al., 2003)

الطافر	النمط الظاهري
<i>phyA</i>	فقد كامل استنثاث الضوء الأحمر البعيد لإزالة الشحوب de-etiolation وتبدو طويلة وشاحبة
<i>phyB</i>	فقد إزالة الشحوب de-etiolation المستحث بالضوء الأحمر وإزهار مبكر وتبدو طويلة
<i>phyC</i>	فقد الحساسية جزئيا واستطالة السوقة الجنينية العليا وصغر في الفلقات مقارنة بالنبات البري تحت ظروف الإضاءة الحمراء المستمرة وينشط الإزهار في غياب فايوكروم أ
<i>phyD</i>	تخفيض قليل للإستجابات للضوء الأحمر (تخفيض أقوى ونمط ظاهري طويل في غياب فايوكروم ب)
<i>phyE</i>	عدم وجود نمط أحادي التوريث؛ طويل وإزهار مبكر في غياب كل من فايوكروم أ و ب

في النظم الأخرى من ذوات الفلقة الواحدة عزلت طوافر مفردة أو مضاعفة التطفر من نبات الأرز *Oryza sativa*، وهو من النباتات قصيرة اليوم، مثل الطوافر لفايتوكروم ب *phyB* ومضاعفة التطفر لكل من فايتوكروم ب-ج *phyB phyC* حيث يظهر عليها فقد جزئي لتحسس الضوء الأحمر المستمر (Takano, et al., 2005). وتذكر الدراسة أيضا التفاعلات ما بين الطفرات مما يرشح نبات الأرز كنظام من ذوات الفلقة الواحدة للدراسات على مستوى الجزيئية الأحيائية .

تستنتج مراجعة عامة للمستجدات في التشكل النباتي في نبات العشب الواعدة (Wang and Deng, 2003) بعض النقاط الرئيسية ولها ما يؤيدها من البحوث ومنها باختصار :

- أن فايتوكروم أ في نبات العشب الواعدة يعد المستقبل الضوئي الرئيسي المسئول عن استشعار الضوء لإحداث الاستجابات المختلفة .
- أن الضوء ينظم نقل فايتوكروم أ وما يرافقه من بروتينات الكاينيز *kinase* في النواة .

- اكتشاف تدرج في نسخ السيطرة على تعبير المورثات التي ينظمها فايتوكروم أ .
- الكشف عن وجود تفاعل مباشر بين فايتوكروم أ وعامل النسخ .
- التعرف على الخطوات الوسيطة لنقل إشارة فايتوكروم أ المحددة مما يشير إلى تداخل مسار البروتياسومات-يويكويتين *ubiquitin-proteasomes pathway* .

#### أنماط الإستجابات الفسيولوجية

تقليدياً، يتم تعريف إحداث الإستجابة الفسيولوجية حسب الطول الموجي والتأثير أو معدل التأثير المطلوب لصبغة الفايتوكروم ، لذلك هناك ثلاث مجموعات من الإستجابات بناء على متطلبات الطاقة (Briggs, et al., 1984) و (Kneissl, et al., 2008) هي :

- ١- استجابات التأثير المنخفض جدا (VLFR) Very Low Fluence Responses حيث يستحثها أقل من ١ ميكرومول م<sup>-٢</sup> من الإضاءة ، ويمكن معمليا استخدام ومضات قصيرة كل ساعة من الضوء الأحمر والأحمر البعيد .
- ٢- استجابات التأثير المنخفض (LFR) Low Fluence Responses وتتطلب ١٠-١٠٠٠ ميكرومول م<sup>-٢</sup> من الضوء الأحمر .
- ٣- استجابات الإشعاع الضوئي العالي (تفاعلات شدة الإضاءة العالية) High Irradiance Responses (HIR) ويتطلب احداثها التعريض لفترة طويلة للضوء الأحمر البعيد وتدفق الفوتونات به كبير نسبيا . تقسم هذه الإستجابة إلى نمطين ( Nagy and Schäfer, 2002) هما : تفاعلات شدة الإضاءة العالية في منطقة الأحمر (R)-HIRs ؛ وتفاعلات شدة الإضاءة العالية في منطقة الأحمر البعيد (FR)-HIRs .
- أما أنماط الاستجابة في الفايثوكرومات فتشير إحدى المراجعات (Casal, et al., 1998) إلى أن العديد من العمليات التي تؤثر فيها الفايثوكرومات تكون ذات اطوار عند المعاملة بالإضاءة (ومضة واحدة أو تكرار للومضات أو الإضاءة المستمرة) حيث يتوقع تكوين سلسلة متدرجة من نسبة  $P_H/P_T$  .
- الطور الأول (استجابات التأثير المنخفض جداً VLFR) يكون الوسيط فيه هو فايثكروم أ phyA
- الطور الثاني (استجابات التأثير المنخفض LFR) يكون وسيطه فايثوكروم ب phyB وبقية الفايثوكرومات عدا فايثوكروم أ .
- الطور الثالث من الاستجابة (استجابات الإشعاع الضوئي العالي HIR) فيبدو أنها ذات علاقة بالتأثير القوي لفايثوكروم أ تحت ظروف الإضاءة المستمرة بالضوء الأحمر البعيد FR .

تتخذ البادرات المنمأة في الظلام أشكالاً مختلفة عن تلك الأشكال في النباتات المعرضة للإضاءة مثل استطالة السلاميات وعدم تميز الورقة واصفرار المجموع الخضري حيث لا يتكون الكلوروفيل . يستثنى من تكوين الكلوروفيل في الظلام نبات *Tradescantia albiflora* وعدد من عاريات البذور والعديد من النباتات غير الزهرية "الدنيا" "lower plants" حيث يتكون الكلوروفيل حتى في الظلام (Schafer and Bowler, 2002). بالمقابل فتعرض النبات لشدة إضاءة عالية يؤدي إلى انخفاض في استطالة السلاميات وزيادة في تركيز الأنثوسيانينات وألوان الأزهار. عموماً ، وباختصار تعد الفايوتكرومات مستقبلات ضوئية ، أي صبغة نباتية تستقبل الإضاءة . هذه الصبغة حساسة للضوء في منطقة الأحمر والأحمر البعيد من الطيف المرئي . ويستغل العديد من النباتات الزهرية هذه الصبغات لتنظيم وقت الإزهار بناء على طول اليوم وتثبيت الإيقاعات السركادية circadian rhythms . تنظم الفايوتكرومات أيضاً إنبات البذور واستطالة البادرات وحجم الأوراق وعددها وشكلها ، كما تساهم الفايوتكرومات في بناء الكلوروفيل واستقامة السويقة فوق الفلقتية epicotyl أو خطاف السويقة الجنينية العليا في بادرات ذوات الفلقتين . من هنا يتضح أن الفايوتكرومات تساهم في إزالة الشحوب في البادرات علاوة على استشعار نوعية الإضاءة لبدء عملية تحاشي الظل (Devlin, et al., 2007; Franklin and Whitelam, 2005).

وتأكيداً لهذه الملاحظات ، قام العلماء بإجراء تجارب محددة لتحديد العملية المعتمدة على الإضاءة . ومثال لذلك ، ما لخصه العالمان مور وشوبر ( Mohr and Schopfer, 1978) بأن العديد من التفاعلات المستحثة بالإضاءة في بادرات نبات الخردل الأبيض *Sinapis alba* يمكن تتبعها لأن لها تأثير لشكل الفايوتكروم الفعال فسيولوجياً  $P_{FR}$  ومنها :

- ١- تثبيط استطالة السويقة تحت الفلقة
- ٢- تثبيط النقل من الفلقات.
- ٣- زيادة المساحة السطحية للفلقات.
- ٤- بسط unfolding نصل الفلقة.
- ٥- تكشف الشعيرات في السويقة تحت الفلقة.
- ٦- استقامة الخفاف في السويقة تحت الفلقة.
- ٧- تكشف الأوراق الأولية.
- ٨- تكشف بادئة الورقة مكتملة النمو.
- ٩- زيادة تفاعلات الانتحاء الأرضي السالب للسويقة تحت الفلقة.
- ١٠- تكشف عناصر الخشب.
- ١١- تميز الثغور في بشرة الفلقة.
- ١٢- تكشف البلاستيدات الشاحبة في الفلقة (النسيج الوسطي).
- ١٣- تغير في مستوى التنفس الخلوي.
- ١٤- بناء الأنثوسيانينات في الفلقة والسويقة تحت الفلقة.
- ١٥- زيادة في بناء أشباه الكاروتين.
- ١٦- زيادة قدرة بناء الكلوروفيل.
- ١٧- زيادة في بناء الحمض النووي الرايبوزي RNA في الفلقة.
- ١٨- زيادة في بناء البروتينات في الفلقة.
- ١٩- تكبير القدرة على (الزيادة في) تكسير الدهون المخزونة.
- ٢٠- تكبير القدرة على (الزيادة في) تكسير البروتينات المخزونة.
- ٢١- زيادة في بناء الإيثيلين.
- ٢٢- الإسراع في إزاحة شيباتا Shibata-shift في الفلقة.
- ٢٣- تقدير مقدرة الفلقات على الفسفرة.
- ٢٤- السيطرة Modulation على بناء الإنزيمات في الفلقة وتنظيمها.

هناك إشارة إلى دور الفايثوكرومات في ظاهرة الانتحاءات، ومنها الانتحاء الأرضي حيث تنمو الجذور طبيعياً باتجاه الجاذبية والسيقان بعكس اتجاه الجاذبية. في بعض أصناف من نباتات الأرز والذرة تنمو الجذور أفقياً في الظلام ولكن تحت إضاءة الأحمر أو الأحمر البعيد المستمرة تنمو الجذور باتجاه الجاذبية (Takano, et al., 2001). ومما يؤيد ذلك، ما أشارت إليه إحدى الدراسات (Correll and Kiss, 2005) بأن الفايثوكرومات تؤدي دوراً في تنظيم كل من الانتحاء الأرضي والنمو في نبات العشب الواعدة حيث استخدمت الطافرات المزدوجة مثل *phyA phyB* والطاقر المفرد مثل *phyB*. يتميز الطافر لفايثوكروم ب *phyB* لنبات العشب الواعدة *Arabidopsis* بالاستطالة والإزهار المبكر مما يشير إلى دور فايثوكروم ب *phyB* في ظاهرة تحاشي الظل. وباستخدام طوافر لنبات العشب الواعدة تبين من الخصائص أن تحاشي الظل ظاهرة ينظمها التفاعل بين الفايثوكرومات ويساهم فيها فايثوكروم د *phyD* بالإضافة إلى دور فايثوكروم ج *phyC* و/أو فايثوكروم هـ *phyE* بالتحكم في وقت الإزهار ومساحة الورقة (Devlin et al., 1999). أما على المستوى الجزيئي، يستفاد من دراسة لتعبير المورثات وتنشيط أو تثبيط نمو البراعم الجانبية ما ذكر بأن فايثوكروم ب يتوسط في نمو البراعم في المجموع الخضري لنبات الذرة *Sorghum bicolor* استجابة للإضاءة (Kebrom, et al., 2006)، وافترض الباحثين بأن فايثوكروم ب *phyB* في الصيغة النشطة Pfr يكبح تعبير المورث المسمى *SbTB1* وبالتالي تنمو البراعم بينما الظروف البيئية المؤدية إلى وجود الشكل غير الفعال Pr يزيد من تعبير المورث وبالتالي يثبط نمو البراعم. يتحكم في فتحة الثغر عدد من العوامل الداخلية والخارجية ومنها الإضاءة حيث يستحث الضوء الأحمر والأزرق فتح الثغور لضرورة البناء الضوئي. يعد الكلوروفيل في البلاستيدات الخضراء في الخلايا الحارسة هو أحد المستقبلات الضوئية. إن الخلايا الحارسة هي الوحيدة التي بها بلاستيدات خضراء من بين خلايا البشرة في

غالبية النباتات. يستثنى من ذلك نوع من السحليات ليس في خلاياها الحارسة كلوروفيل وهي نبات *Paphiopedilum harrisianum*، ومع ذلك يستحث نموها الضوء الأزرق مما يشير إلى وجود مستقبل للضوء الأزرق (Zeiger, et al., 1985). تخلص مراجعة عامة (Assman and Shimazaki, 1999) إلى أنه ليس هناك دليل قاطع على طبيعة صبغة المستقبل الضوئي في الخلايا الحارسة مع أن المرشح الأكثر ترجيحاً هو شبه الكاروتين الزيازانثين *zeaxanthin*، لكن في دراسة تالية (Talbot, et al., 2002a) تبين أن الخلايا الحارسة في السحلب *Paphiopedilum* تحوي صبغات قليلة لكل من كلوروفيللي أ و ب وزيازانثين وفيلوزانثين وأثيرازانثين وليوتين. وتضيف هذه الدراسة أن خلايا ثغور هذا السحلب تُظهر استجابة فتح الثغور المستحث بالإضاءة الزرقاء علاوة على الخصائص الأخرى الموجودة في النباتات ذوات الثغور الحامية خلاياها الحارسة على بلاستيدات خضراء طبيعية واستجابة فتح الثغور حيث الوسيط في ذلك الفايكوكروم . من ناحية أخرى توضح دراسات الطوافر لنبات العشب الواعدة أن فوتوتروبين ١ وفوتوتروبين ٢ هما مستقبلات الاستجابة للإضاءة الزرقاء والوسيط في فتح الثغور (Kinoshita, et al., 2001).

من الجدير بالذكر أن استجابة فتحة الثغور للإضاءة الزرقاء يمكن عكسها بالضوء الأخضر في عدد من النباتات التي درست (٨ أنواع ، من ضمنها نباتات بقولية) وذلك بطريقة مماثلة لتأرجح صبغة الفايكوكروم مع الضوء الأحمر والأحمر البعيد والفرق في مضاعفة شدة الإضاءة الخضراء (Talbot et al 2002b). يضيف الباحثون أيضاً أن الاستجابة المعتمدة على الجرعة متشابهة في جميع الأنواع المدروسة مما يشير إلى أن العكس بالضوء الأخضر خاصية أساسية للخلايا الحارسة. من ناحية أخرى تبين أن الضوء الأخضر لا يعكس عملية فتح الثغور التي يتوسط بها الضوء الأحمر لضرورة البناء الضوئي .

### صبغات الأزرق /فوق البنفسجية أ

تنظم الإضاءة بالأشعة في منطقة الضوء الأزرق (٣٩٠-٥٠٠ نانومتر) والأشعة فوق البنفسجية أ (٣٢٠-٣٩٠ نانومتر) عدداً من الاستجابات الفسيولوجية في النباتات (Kasahara, et al., 2002). تتطلب هذه الاستجابات وجود مستقبلات ضوئية في النبات، وقد تم التعرف على عدد منها كالفوتوتروبيينات والكريبتوكرومات ومجموعة من البروتينات المسماة بالاختصار ZTL/ADO (zeitlupe) واختصارها ZTL و Adagio واختصارها ADO)، والأدلة تشير إلى وجود صبغات أخرى (Devlin, et al., 2007). مع أن صبغات الفايوكروم تمتص في منطقة الضوء الأزرق وفوق البنفسجي إلا أن معظم الإستجابات في النبات في هذه المنطقة من الضوء هي لتلك الصبغات الواردة أدناه (Jenkins, et al. 2001).

#### الفوتوتروبيينات

تتحكم الفوتوتروبيينات كمستقبلات للضوء الأزرق /فوق البنفسجي أ في كثير من الاستجابات في النباتات والتي تؤدي إلى الوصول إلى أكبر كفاءة للبناء الضوئي وتنشيط النمو في الظروف البيئية التي تنمو بها النباتات. تتحكم الفوتوتروبيينات أيضاً في استجابات فسيولوجية أخرى حيث قد تشاركها في ذلك صبغات أخرى، لكن الحساسية الضوئية مختلفة. بعد اكتشاف الفوتوتروبيينات في نبات العشب الواعدة (Huala, et al., 1997) تم التعرف عليها في العديد من المجاميع النباتية وبعض الطحالب الخضراء (Sullivan, et al., 2008; Christie, 2007). تتميز الفوتوتروبيينات بخصائص تركيبية محددة وبالفسفرة الذاتية autophosphorylating (Briggs et al., 2001b).

## التركيب الكيميائي

تعد الفوتوتروبيينات بروتينات فلافينية flavoproteins تحوي إثنان من النكليدات الفلافينية الأحادية Flavin Mononucleotide (FMN) كحامل صبغي مرتبط بالبروتين (Quail, 2002b). تتميز منطقة الطرف الأميني بوحيدتان متشابهتان حيث البروتين المرتبط به النكليدة الفلافينية الأحادية يحوي نحو ١١٠ من الأحماض الأمينية. كل وحدة مكونة من مجموعة من البروتينات هي [Per-Arnt-Sim]، ويطلق عليها إختصاراً (PAS)، (تمثل Per بروتين فترة الساعة الأحيائية لحشرة الدروسوفيل إختصاراً *Drosophila*؛ و Arnt تمثل ناقل المستقبل النووي من الهيدروكربونات الأريالية aryl hydrocarbon؛ و Sim من البروتينات المكتشفة في الدروسوفيل). تتأثر حالة جهد الأكسدة والإختزال للوحيدة بكثير من العوامل البيئية مثل الضوء Light والأكسجين Oxygen أو فرق الجهد Voltage ومنه يطلق على هاتان الوحيدتان إختصار هذه العوامل LOV أي الوحيدة الأولى LOV1 والوحيدة الثانية LOV2 (Huala, et al., 1997). وبالمقابل فممنطقة الطرف الكربوكسيلي عادي حيث يحوي بروتين الكاينيز بالأحماض الأمينية السيرين/الثريونين serine/threonine. يُنشَط هذا الطرف (الكربوكسيلي) بامتصاص الطرف الأميني لموجات الضوء الزرقاء/فوق البنفسجية أ. تم التعرف على نوعين من الفوتوتروبيينات: فوتوتروبين ١ (phot1)، (Christie et al., 1999; Huala, et al., 1997)، وفوتوتروبين ٢ (phot2)، (Jarillo et al., 1998). كانت تعرف هذه الفوتوتروبيينات سابقاً بأكثر من رمز مشتق من وظيفتها مثل *nph1* لفوتوتروبين ١ و *NPL1* لفوتوتروبين ٢ (Briggs, et al., 2001a). يرتبط الفوتوتروبين ١ بالغشاء الخلوي كبروتين جانبي (Sakamoto and Brigs, 2002) أما الفوتوتروبين ٢ (phot2) فلم يحدد موقعه حتى الآن (Quail, 2002b).

## الاستجابة الفسيولوجية

تساهم الفوتوتروبيينات في عملية الانتحاء الضوئي phototropism والنمو الموجه أو حركة البلاستيدات كاستجابة لشدة الإضاءة (Kagawa, *et al.*, 2001) و (Christie, 2007) وفتح الثغور (Kinoshita, *et al.*, 2001) وتمدد الورقة والتشبيط السريع لنمو السوقة تحت الفلقية (Christie and Briggs, 2005). يُستدل من الدراسات الوراثية على أن فوتوتروبين ١ وفوتوتروبين ٢ يساهمان في حركة تحاشي الإضاءة لحركة البلاستيدة (Sakai, *et al.*, 2001) لكن إذا كانت الإضاءة عالية فلا يساهم في حركة التحاشي سوى فوتوتروبين ٢ (Kagawa, *et al.*, 2001). يستحث الفوتوتروبين ١ (وبدرجة أقل فوتوتروبين ٢) نمو النبات تحت ظروف الإضاءة المنخفضة من الضوء الأزرق (الأزرق ١، ٠، ١ ميكرومول م<sup>-٢</sup> ثانية<sup>-١</sup>، وخلفية من الضوء الأحمر ٢٥ ميكرومول م<sup>-٢</sup> ثانية<sup>-١</sup>) حيث كانت الزيادة في تمدد الورقة وكتلة النبات معنوية، مما يشير إلى أن دور الفوتوتروبيينات في نمو النباتات وتكثفها تحت ظروف الإضاءة المنخفضة (Takemiya, *et al.*, 2005). أما في الأنسجة الخضراء كالورقة فإن تحديد وضعها بالنسبة لاستقبال الضوء يعد ضرورياً للوصول إلى أكبر كفاءة من البناء الضوئي، ومنه يستدل من دراسة على توجيه الورقة في نبات العشب الواعدة *Arabidopsis* للوضع المناسب (Inoue, *et al.*, 2008) ومدى مساهمة المستقبلات الضوئية أن المتحكم في ذلك هو فوتوتروبين ١ (كان يرمز لهذا المستقبل بالرمز NPH1 انظر (Briggs, *et al.*, 2001a)) في وجود البروتين NPH3. أشتق هذا الاسم من بادئات التسمية "عامل السوقة تحت الفلقية غير المكون للإنتحاء الضوئي" (nonphototropic hypocotyl3, NPH3). يعد هذا البروتين واحداً من ٣٢ بروتينا كشف عن وجودها في نبات العشب الواعدة ذات العلاقة باستقبال الضوء ومنها بروتين انتحاء الجذور root phototropism, RPT1، ويطلق عليها مجموعة بروتينات NPH3/RPT2، (Motchoulski and Liscum, 1999) ونظراً لتشابه هذه البروتينات تركيبياً

فالمقترح أن تعمل كغطاء للمستقبل الضوئي ، وهو في هذه الحالة فوتوتروبين ١ .  
من ناحية أخرى ينظم الفوتوتروبين ١ امتصاص الكالسيوم المستحث بالضوء  
الأزرق (Baum, et al., 1999) .

### الكريبتوكرومات

تتميز الكائنات الحية بوجود صبغات مستقبلية للضوء الأزرق/ فوق البنفسجي وهي  
الكريبتوكرومات حيث وجدت في معظم الحيوانات وذلك كجزء تרכيبي للساعة الأحيائية  
(السركادية) المتحكمة في الايقاعات اليومية للسلوك والعمليات الفسيولوجية وكمستقبل  
للضوء الأزرق/ فوق البنفسجي ليساهم في تثبيت دقة الساعة الأحيائية . توجد  
الكريبتوكرومات في كائنات حية أخرى كالبكتيريا الحقيقية والفطريات والأوليات والنباتات  
(Lin and Todo, 2005) . أما في النباتات فقد تم تحديد إثنان من الكريبتوكرومات كمستقبلات  
ضوئية في نطاق الضوء الأزرق / فوق البنفسجي أ يساهمان مع الفايثوكرومات للتأكد من  
زوال الشحوب في البادرات وتنظيم وقت الإزهار وغيرها باستخدام مدى واسع من أطوال  
الموجات الضوئية (Devlin, et al., 2007; Somers, et al., 1998).

### التركيب الكيميائي

تم التعرف حتى الآن على إثنان من المستقبلات الضوئية  
الكريبتوكرومات cryptochromes ، هما كريبتوكروم ١ (CRY1) حيث أكتشف  
عام ١٩٩٣ (Ahmad and Cashmore, 1993) تلاه الكشف عن كريبتوكروم ٢  
(CRY2) عام ١٩٩٩ (Cashmore, et al., 1999) والمورثات التي تشفر لها  
أخذت التسمية نفسها أي CRY1 أو (HY4) و CRY2 . تتكون الكريبتوكرومات  
كيميائياً من بروتينات فلافينية flavoproteins تحمل حاملين صبغيين إما البتيرين  
pterin وإما دي أزاflavin deazaflavin على موقع واحد إضافة إلى ثنائي

نكليدتي الفلافين-أدينين FAD في موقع آخر في منطقة الطرف الأميني من البروتين. يختلف نوعي الكريبتوكروم في تركيبه الطرف الكربوكسيلي ويوجدان في النواة وقد يكون هناك تفاعلات أكسدة واختزال فيما بينهما (Quail, 2002b).

### الاستجابة الفسيولوجية

تساهم الكريبتوكرومات كصبغة مستقبلة للضوء الأزرق / فوق البنفسجي أ في عدد من الاستجابات الفسيولوجية في النباتات بما في ذلك تثبيط استطالة السويقة تحت الفلجية ، وتراكم الأنثوسيانينات ، واستطالة السلاميات وأعناق الأوراق ، والبدء في عملية الإزهار ، والانتحاء الضوئي ، وتثبيت الإيقاعات السركادية (Ahmad and Cashmore, 1996) و (Ahmad, 1999). أما في عالم الحيوان فيبدو أن الكريبتوكرومات تساهم في التثبيت والمحافظة على الإيقاعات السركادية (Sancar, 2000) .

هناك دراسة جديدة تشير إلى وجود كريبتوكروم 3 CRY3 داخل البلاستيدات الخضراء قد يكون دوره تنظيم تعبير المورثات (Banerjee and Batschauer, 2005). وبما يؤيد ذلك ما نشر حديثاً (Selby and Sancar, 2006) عن وجود كريبتوكروم 3 في نبات العشب الواعدة ، وأنه يؤدي دوراً في إصلاح الشريط المفرد من الحمض النووي ناقص ذرة الأكسجين DNA.

### صبغات أخرى

يشير أحد البحوث (Nozue et al., 1998) إلى وجود مستقبل ضوئي في نبات السرخس *Adiantum capillus-veneris* وبه الطرف الأميني ٥٦٦ حمضاً أمينياً يظهر به تشابه مع الفايوتكروم ويظهر التحول بنظام الإضاءة أحمر/أحمر بعيد بعد تعبيره في نظم أحيائية أخرى . من ناحية أخرى يظهر هذا المستقبل الأحمر تشابهاً كبيراً في

التركيب مع المستقبل الضوئي الفوتوتروبين باحتوائه على منطقتين من LOV ومنطقة كينيز السيرين/الثيورين Ser/Thr kinase. من هنا فإن هذا المستقبل يجمع خواص الفاييتوكروم وما يشبه الفوتوتروبين. أطلق الباحثون على هذا السوبركروم "superchrome" الاسم phy3. من هنا فوجود هذه الخواص غير العادية قد توحى بأن فيتوكروم ٣ ما هو إلا وسيلة لزيادة الحساسية للإضاءة وبالتالي تسمح بنمو هذا النبات تحت ظلة أشجار الغابة قليلة الإضاءة (Kanegae, et al., 2006). وراثياً يعد وجود فاييتوكروم ٣ (نيوكروم ١؛ Suetsugu et al., 2005) طفرة كإيميرية لبروتينات الفوتوتروبين والفايتوكروم.

يذكر بعض العلماء وجود طائفة جديدة من مستقبلات الإضاءة الزرقاء/فوق البنفسجية أطلق عليها مجموعة بروتينات ZTL/ADO (Briggs, 2006b) وأيضا منطقة الضوء الأخضر (Devlin, et al., 2007). تتضمن هذه المجموعة بروتينات تساهم في تكسير مستهدف لمكونات مرتبطة بوظيفة الساعة الأحيائية (Mas, et al., 2004; Kiba, et al., 2007; Kim, et al., 2007) والإزهار (Sawa, et al., 2007). تتكون مجموعة البروتينات هذه من ثلاث مكونات؛

الأول : فئة Zeitlupe أو اختصاراً (ZTL) ويعرف أيضا بالاسم Adagio, ADO ،

الثاني : فئة F-box1 مكرر ربط الفلافين Flavin-binding, repeat F-box1 أو

اختصاراً FKF1.

الثالث : فهو فئة بروتين 2 LOV Kelch protein أو اختصاراً LKP2 (Devlin, et

al., 2007).

تشارك هذه المجموعة مجتمعة بخصائص معروفة وهي :

١- منطقة LOV لاستشعار الضوء الأزرق/فوق البنفسجي أ.

## ٢- مجمع F-box لإظهار أهداف تكسير البروتين.

## ٣- منطقة Kelch للطرف الكربوكسيلي للتوسط في تفاعلات البروتين-بروتين.

تجدر الإشارة إلى أن فئة FKF1 تظهر نشاط مستقبل ضوئي منفرد لمعرفة طول اليوم وكذلك تنشيط مسار التأقت الضوئي للإزهار (Imaizumi, et al., 2003). هناك بعض الأدلة التي تشير إلى وجود مستقبلات ضوئية أخرى في منطقة الأشعة فوق البنفسجية-UV B ومنطقة الأخضر من الإشعاع الكهرومغناطيسي (Devlin, et al., 2007).

كشفت إحدى الدراسات (Tsuboi et al 2007) أن حركة النواة في الخلايا المشيجية لسرخس *Adiantum capillus-veneris* من المتعامدة مع الجدار في الظلام إلى المحيطية مع الجدار في الإضاءة وكذلك حركة البلاستيدات التي تستجيب للإضاءة الحمراء يتوسط فيها مستقبل صبغي جديد أطلق عليه نيوكروم ١ (neochrome1 (neo1). أما الحركة المستحثه بالضوء الأزرق / فوق البنفسجي أ فساهم فيها كل من نيوكروم ١ وفوتوتروبين ٢ ومن المحتمل أيضا فوتوتروبين ١. وتضيف الدراسة أيضا إلى أن عودة النواة والبلاستيدات لموقعها في غياب الإضاءة يساهم فيه الفوتوتروبين ٢ وقد أيد حركة العودة بحث آخر عن الأساسيات الجزيئية لوظيفة الفوتوتروبينات (Aihara, et al., 2008)، أي أن النواة والبلاستيدات تشارك في نظام واحد للمستقبلات الضوئية.

في مجموعة الطحالب الخضراء عرفت طفرات البروتين الكايميرية Chimeric protein لحركة البلاستيدة متماثلة مع تلك الموجودة في السرخس *Adiantum capillus-veneris* والتي يطلق عليها فايوتوكروم ٣ phy3، وسميت هذه الطفرات نيوكروم (MsNeo1; MsNeo2) مع رموز النوع بالنسبة للطحلب الخيطي الأخضر *Mougeotia scalaris*، واقترح الباحثون (Suetsugu et al., 2005) ضم هذه الطفرات الكايميرية تحت مجموعة نيوكروم neochrome لتصبح كالتالي :

في الطحلب *Mougeotia scalaris* يكون الاسم للطفرتين : MsNeo1 و

. MsNeo2

في السرخس *Adiantum capillus-veneris* يكون الاسم : AcNeo1(=AcPHY3).