الباب الثاني

صبغات التشكل النباتية

- صبغات التشكل النباتية

obeikandl.com

obeikandl.com

الفصل الثالث

صبغات التشكل النباتية

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

المقدمة

تتميز النباتات الخضراء بعمليات تستحثها الإضاءة وتدعى العمليات الأحياضوئية 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 وتثبيط 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 الإحتكاك 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 تغيُر 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 وبآليات مختلفة اكتسبتها النباتات لكي يتأقلم نموها وتكشفها 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 والتكشف وفقا لمعلومات الإضاءة في بيئاتها (Quail, 2002b; Neff, et al., 2000) .

صبغات الأحمر/الأحمر البعيد

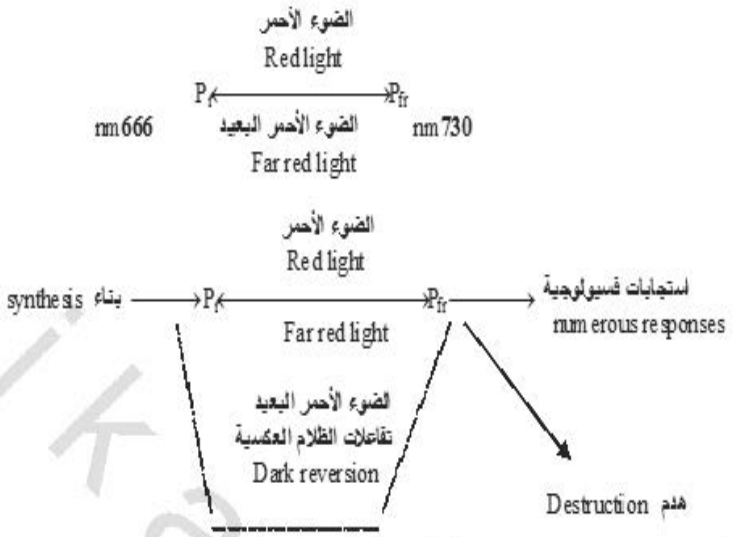
الفايتوكرومات

اكتشاف الفايتوكروم

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 عُرِفت الصبغة وسميت بواسطة كل من وارن بتلر Warren Butler وهارولد سيجلمان Harold Siegelman باسم صبغة الفايتوكروم ، ولمزيد من النواحي التاريخية لهذه الصبغة يمكن الرجوع إلى أحد الكتب المتخصصة (Sage, 1992)، على سبيل المثال.

عُرِفت الفايتوكرومات في معظم النباتات كما عُرِف جزيء مشابه في عدد من البكتيريا (مثل *Deinococcus* و *Agrobacterium tumefaciens*). ويبدو أن صبغة الفايتوكروم توجد في الغشاء الخلوي والنواة والبلاستيدات - إذ أنها تساهم في توجيه البلاستيدات - لكن ليس كل الخلايا النباتية متساوية في ذلك حيث أن وجود الفايتوكروم محصور في الخلايا الحارسة في نسيج البشرة ، على سبيل المثال . تعد الفايتوكرومات من الصبغات المتأرجحة بين لونين حسب آخر إضاءة تعرضت لها الصبغة، لذلك هناك شكلين ثابتين لكل فايتكروم ؛ الشكل الرئيسي ويُبنى 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 (٣,١)] . إن الشكل الفعال فسيولوجياً والذي يستحث الإستجابة (تنشيط أو تثبيط) هو الشكل الثاني (P_{fr}). وللمحافظة على ثبات وألفة الفايتوكرومات يبدو أن النباتات تستخدم حالات الفسفرة المتغيرة (لبقية حمض السيرين في جزء الفايتوكروم البروتيني) حسب حالة الضوء الخارجية وذلك للوصول إلى أعلى حد من استقبال الإضاءة والإستجابة لها (Ryu, et al., 2005) .



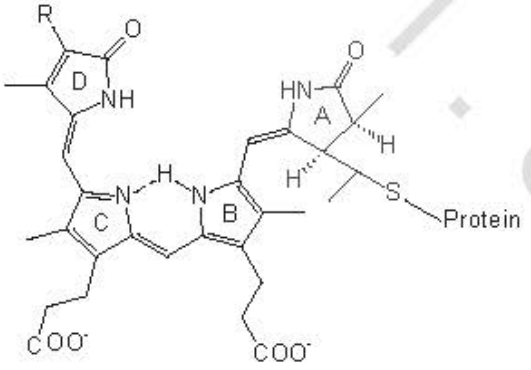
الشكل رقم (١,٣). رسم توضيحي لتأرجح الشكلين من الفايتوكروم حسب الإضاءة ومسار التحولات الأخرى.

حسب الرسم التخطيطي الموضح لتحولات صبغة الفايتوكروم 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 تكسيره كعملية هدم . من ناحية أخرى ، تشير إحدى المراجعات (Chory, et al., 1996) إلى وجود دور للهرمونات النباتية (الجبريلينات والأكسينات والسايتوكاينينات) وأحد أشباه الستيرول وهو البراسينولايد brassinolide في تكشف النبات المعتمد على الإضاءة للتشابه التام لنتيجة المعاملة بالهرمونات مع عمل الفايتوكرومات كمستقبلات للإضاءة . ولوحظ في دراسة على استطالة السويقة 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 الفايتوكروم يقيس نوعية الضوء فقط

وليس كميتة 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 والسايتوكاينينات والجبريللينات 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 للفايتوكرومات

الفايتوكرومات عبارة عن بروتينات صبغية ثنائية dimeric chromoproteins تتكون من وحيدتين متشابهتين تماما ذات وزن جزئي يتراوح من ١٢٠ إلى ١٢٧ كيلودالتون حسب نوع النبات وقد يطلق عليها أبوفايتوكروم apophytochrome . تتكون الوحيدة من سلاسل عديد البيتيد من تتابع للأحماض الأمينية قدرت من ١١١٠ إلى ١١٧٢ مما يجعلها ضمن أطول سلاسل البيتيدات المعروفة (Quail, 1991) . يرتبط بهذا البروتين الحامل الصبغي chromophore برابطة ثيوإيثر thioether [انظر الشكل رقم (٣,٢) الذي يوضح تركيب الحامل الصبغي] .



الشكل رقم (٣,٢). تركيب الحامل الصبغي للفايتوكروم .

المصدر : العنوان : <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e30/30b.htm>

يتكون الحامل الصبغي من أربع حلقات من البيرول 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 الفايتوكرومات في كاسيات البذور أعطيت الرموز فايتكروم أ phyA وفايتكروم ب phyB وفايتكروم جـ phyC . يشفر لهذه الفايتوكرومات الثلاثة مورثات بالرموز نفسها (*PHYA* و *PHYB* و *PHYC*) (Sharrock and Quil, 1989) . يحدث بناء الفايتوكرومات في الظلام للشكل غير الفعال فسيولوجياً (P_r) في سيتوبلازم الخلية ، وبعد تعرضه للإضاءة وتحوله إلى الشكل الفعال (P_{fr}) يبدأ النقل إلى النواة لتكون بقعا مميزة discrete speckles كما في نبات العشبة الواعدة (Kircher, et al., 2002) . تتأثر عملية تجزئة الفايتكرومات بين النواة والسيتوبلازم بنوعية الإضاءة ، ففي شدة الإضاءة العالية–الأحمر يسود فايتوكروم ب phyB بينما في شدة الإضاء العالية–الأحمر البعيد تكون السيادة لفايتوكروم 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 (الفايتوكرومات) إلى النواة وارتباطها بعوامل النسخ ، بالاضافة إلى عملية تكسير المركبات الوسطية الفعالة (Schafer and Bowler, 2002) .

هناك نوعان آخران من الفايتوكرومات في النباتات ذوات الفلقتين هما : فايتوكروم د phyD وفايتوكروم هـ phyE يشفر لهما المورثان (*PHYE* و *PHYD*) (Clack et al., 1994) . ومن الأمثلة على ذلك ما وجد في أكثر الأنظمة النباتية المدروسة بدرجة كبيرة (نظام نبات العشبة الواعدة *Arabidopsis*) حيث هناك خمسة أنواع من البروتينات الصبغية للفايتوكروم هي ، فايتوكروم 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 الفايتوكرومات هي : فايتوكروم أ– جـ (phyA-phyC).

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

من الناحية الوراثية ساهمت البحوث على نبات العشبة الواعدة *Arabidopsis* في زيادة المعرفة بالنواحي الجزيئية لدور صبغات الفايتوكروم 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 الفايتوكروم المعروفة أيضا في نظم نباتية أخرى (Neff, et al., 2000) . قد تحدث الطفرة في فئة المورثات للجزء البروتيني من الفايتوكروم apoprotein أو في جزء الفايتوكروموبيلين phytochromobilin مما يحدث عدم استجابة مهما كانت ظروف الإضاءة . وعلى سبيل المثال تم التعرف على طافرات لأنواع الفايتوكروم الموجودة في نبات العشبة الواعدة وما يظهر على النمط الظاهري مع تداخل العوامل الأخرى كما في الجدول التالي رقم (٣,١) :

الجدول رقم (٣,١) . أنواع الطافرات (أبوبروتين apoprotein) والشكل الظاهري المقترن بها (مقتبسة من Hudson, 2000 عدا الطافر *phyC* فمن Monte, et al., 2003)

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

في النُظم 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 فايتكروم ب-جـ *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 العشبة الواعدة (Wang and Deng, 2003). بعض النقاط الرئيسية ولها ما يؤيدها من البحوث ومنها باختصار :

- أن فايتوكروم أ في نبات العشبة 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 الوسطية لنقل إشارة فايتوكروم أ المحددة مما يشير إلى تداخل مسار البروتياسومات-يوبيكويتين 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 Very Low Fluence Responses (VLFR) حيث يستحثها أقل من ١ ميكرومول م$^{-٢}$ من الإضاءة ، ويمكن معمليا استخدام ومضات قصيرة كل ساعة من الضوء الأحمر والأحمر البعيد .

٢- استجابات التأثير المنخفض Low Fluence Responses (LFR) وتتطلب ١٠-١٠٠٠ ميكرومول م$^{-٢}$ 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 الفايتوكرومات فتشير إحدى المراجعات (Casal, et al., 1998) إلى أن العديد من العمليات التي تؤثر فيها الفايتوكرومات تكون ذات اطوار عند المعاملة بالإضاءة (ومضة واحدة أو تكرار للومضات أو الإضاءة المستمرة) حيث يتوقع تكوين سلسلة متدرجة من نسبة P_{fr}/P_r .

الطور الأول (استجابات التأثير المنخفض جداً VLFR) يكون الوسيط فيه هو فايتكروم أ phyA

الطور الثاني (استجابات التأثير المنخفض LFR) يكون وسيطه فايتوكروم ب phyB وبقية الفايتوكرومات عدا فايتوكروم أ .

الطور الثالث من الاستجابة (استجابات الإشعاع الضوئي العالي HIR) فيبدو أنها ذات علاقة بالتأثير القوي لفايتوكروم أ تحت ظروف الإضاءة المستمرة بالضوء الأحمر البعيد FR .

تتخذ البادرات المنماة في الظلام أشكالا 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 فتعريض النبات لشدة إضاءة عالية يؤدي إلى انخفاض في استطالة السلاميات وزيادة في تركيز الأنثوسيانينات وألوان الأزهار. عموما ، وباختصار تعد الفايتوكرومات 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 الفايتوكرومات أيضا إنبات البذور واستطالة البادرات وحجم الأوراق وعددها وشكلها ، كما تساهم الفايتوكرومات في بناء الكلوروفيل واستقامة السويقة فوق الفلقية epicotyl أو خطاف السويقة الجنينية العليا في بادرات ذوات الفلقتين . من هنا يتضح أن الفايتوكرومات 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 باجراء 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 الفايتوكروم الفعال فسيولوجياً P_{FR} ومنها :

١- تثبيط استطالة السويقة تحت الفلقية
٢- تثبيط النقل من الفلقات.
٣- زيادة المساحة السطحية للفلقات.
٤- بسط unfolding نصل الفلقة.
٥- تكشف الشعيرات في السويقة تحت الفلقية.
٦- استقامة الخطاف في السويقة تحت الفلقية.
٧- تكشف الأوراق الأولية.
٨- تكشف بادئة الورقة مكتملة النمو.
٩- زيادة تفاعلات الانتحاء الأرضي السالب للسويقة تحت الفلقية.
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 الفلقية.
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.

obeikandl.com

هناك إشارة إلى دور الفايتوكرومات 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 أفقيا 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 الفايتوكرومات تؤدي دوراً في تنظيم كل من الانتحاء الأرضي والنمو في نبات العشبة الواعدة حيث استخدمت الطافرات المزدوجة مثل *phyA phyB* والطافر المفرد مثل *phyB* .

يتميز الطافر لفايتوكروم ب *phyB* لنبات العشبة الواعدة *Arabidopsis* بالاستطالة والإزهار المبكر مما يشير إلى دور فايتوكروم ب phyB في ظاهرة تحاشي الظل . وباستخدام طوافر لنبات العشبة الواعدة تبين من الخصائص أن تحاشي الظل ظاهرة ينظمها التفاعل بين الفايتوكرومات ويساهم فيها فايتوكروم د phyD بالإضافة إلى دور فايتوكروم جـ phyC و/أو فايتوكروم 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 فايتوكروم ب يتوسط في نمو البراعم في المجموع الخضري لنبات الذرة *Sorghum bicolor* استجابة للإضاءة (Kebrom, *et al.*, 2006)، وافتراض الباحثين بأن فايتوكروم 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 (Talbott, *et al.*, 2002a) تبين أن الخلايا الحارسة في السحلب *Paphiopedilum* تحوي صبغات قليلة لكل من كلوروفيللي أ و ب وزيازانثين وفيولازانثين وأنثيرازانثين 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 الحاوية خلاياها الحارسة على بلاستيدات خضراء طبيعية واستجابة فتح الثغور حيث الوسيط في ذلك الفايتوكروم . من ناحية أخرى توضح دراسات الطوافر لنبات العشبة الواعدة أن فوتوتروبين ١ وفوتوتروبين ٢ هما مستقبلا الاستجابة للإضاءة الزرقاء والوسيط في فتح الثغور (Kinoshita, *et al.*, 2001).

من الجدير بالذكر أن استجابة فتحة الثغر للإضاءة الزرقاء يمكن عكسها بالضوء الأخضر في عدد من النباتات التي درست (٨ أنواع ، من ضمنها نباتات بقولية) وذلك بطريقة مماثلة لتأرجح صبغة الفايتوكروم مع الضوء الأحمر والأحمر البعيد والفرق في مضاعفة شدة الإضاءة الخضراء (Talbott *et al* 2002b) . يضيف الباحثون أيضا 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 كالفوتوتروبينات 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 الفايتوكروم 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).

الفوتوتروبينات

تتحكم الفوتوتروبينات 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 التى تنمو بها النباتات. تتحكم الفوتوتروبينات أيضا في استجابات فسيولوجية أخرى حيث قد تشاركها في ذلك صبغات أخرى، لكن الحساسية الضوئية مختلفة . بعد اكتشاف الفوتوتروبينات في نبات العشبة الواعدة (Huala, *et al.*, 1997) تم التعرف عليها في العديد من المجاميع النباتية وبعض الطحالب الخضراء (Sullivan, *et al.*, 2008; Christie, 2007) . تتميز الفوتوتروبينات بخصائص تركيبية محددة وبالفسفرة الذاتية autophosphorylating (Briggs *et al.*, 2001b) .

التركيب الكيميائي

تعد الفوتوتروبينات بروتينات فلافينية flavoproteins تحوي إثنتان 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 وحيدة مكونة من مجموعة من البروتينات هي [Per–Arnt–Sim]، ويطلق عليها إختصاراً (PAS)، (تمثل Per بروتين فترة الساعة الأحيائية لحشرة الدروسوفيلا *Drosophila*؛ و Arnt تمثل ناقل المستقبل النووي من الهيدروكربونات الآرايلية aryl hydrocarbon ؛ و Sim من البروتينات المكتشفة في الدروسوفيلا). 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 فمنطقة 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 الفوتوتروبينات : فوتوتروبين ١ (phot1)، (Christie *et al.*, 1999; Huala, *et al.*, 1997) ، وفوتوتروبين ٢ (phot2)، (Jarillo *et al.*, 1998) . كانت تعرف هذه الفوتوتروبينات سابقا 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 الأن (Quail, 2002b).

الاستجابة الفسيولوجية

تساهم الفوتوتروبينات 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 والتثبيط السريع لنمو السويقة 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 الفوتوتروبين١ (وبدرجة أقل فوتوتروبين٢) نمو النبات تحت ظروف الإضاءة المنخفضة من الضوء الأزرق (الأزرق ٠,١ ميكرومول م$^{-٢}$ ثانية$^{-١}$ ، وخلفية من الضوء الأحمر ٢٥ ميكرومول م$^{-٢}$ ثانية$^{-١}$) حيث كانت الزيادة في تمدد الورقة وكتلة النبات معنوية، مما يشير إلى أن دور الفوتوتروبينات في نمو النباتات وتكشفها 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 العشبة الواعدة *Arabidopsis* للوضع المناسب (Inoue, *et al.*, 2008) ومدى مساهمة المستقبلات الضوئية أن المتحكم في ذلك هو فوتوتروبين١ [كان يرمز لهذا المستقبل بالرمز NPH1 انظر (Briggs, *et al.*, 2001a)] في وجود البروتين NPH3 . أشتق هذا الاسم من بادئات التسمية "عامل السويقة تحت الفلقية غير المكون للإنتحاء الضوئي" (nonphototropic hypocotyl3,NPH3) . يعد هذا البروتين واحداً من ٣٢ بروتينا كشف عن وجودها في نبات العشبة 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 تركيبيا

فالمقترح أن تعمل كغطاء للمستقبل الضوئي، وهو في هذه الحالة فوتوتروبين١. من ناحية أخرى ينظم الفوتوتروبين ١ امتصاص الكالسيوم المستحث بالضوء الأزرق (Baum, *et al.*, 1999) .

الكريبتوكرومات

تتميز الكائنات الحية بوجود صبغات مستقبلة للضوء الأزرق/فوق البنفسجي وهي الكريبتوكرومات حيث وجدت في معظم الحيوانات وذلك كجزء تركيبي للساعة الأحيائية (السركادية) المتحكمة في الايقاعات اليومية للسلوك والعمليات الفسيولوجية وكمستقبل للضوء الأزرق/فوق البنفسجي ليساهم في تثبيت دقة الساعة الأحيائية . توجد الكربتوكرومات 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 الفايتوكرومات 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 الأن على إثنان من المستقبلات الضوئية الكريبتوكروم 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 أزافلافين deazaflavin على موقع واحد إضافة إلى ثنائي

نكليـدتي الفلافـين-أديـنين FAD في موقـع آخـر في منطقـة الطـرف الأمـيني مـن الـبروتين . يختلـف نـوعي الكريبتـوكروم في تركيبـة الطـرف الكربوكـسيلي ويوجـدان في النـواة وقـد يكـون هنـاك تفـاعلات أكـسدة واختـزال فيمـا بينهمـا (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 الفلقية ، 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 ٣ CRY3 داخل البلاستيدات الخضراء قد يكون دوره تنظيم تعبير المورثات (Banerjee and Batschauer, 2005). ومما يؤيد ذلك ما نشر حديثاً (Selby and Sancar, 2006) عن وجود كريبتوكروم ٣ في نبات العشبة الواعدة، وأنه يؤدي دورا 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 الفايتوكروم 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 الفايتوكروم وما يشبه الفوتوتروبين . أطلق الباحثون على هذا السوبركروم "superchrome" الاسم phy3 . من هنا فوجود هذه الخواص غير العادية قد توحي بأن فيتوكروم ٣ ما هو إلا وسيلة لزياد الحساسية للإضاءة وبالتالي تسمح بنمو هذا النبات تحت ظلة أشجار الغابة قليلة الإضاءة (Kanegae, *et al.*, 2006). وراثيا يعد وجود فايتوكروم٣ (نيوكروم١ ؛ Suetsugu *et al.*, 2005) طفرة كايميرية لبروتينات الفوتوتروبين والفايتوكروم .

يذكر بعض العلماء وجود طائفة جديدة من مستقبلات الإضاءة الزرقاء/فوق البنفسجية أ يطلق عليها مجموعة بروتينات ZTL/ADO (Briggs, 2006b) وأيضا منطقة الضوء الأخضر (Devlin, et el., 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 LOV Kelch protein 2 أو اختصاراً LKP2 (Devlin, *et al.*, 2007) .

تشترك 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 el.*, 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 تستحثها الإضاءة الحمراء يتوسط فيها مستقبل صبغي جديد أطلق علية نيوكروم ١ (neo1) neochrome1 . أما الحركة المُستحثة بالضوء الأزرق / فوق البنفسجي أ فيساهم فيها كل من نيوكروم ١ وفوتوتروبين ٢ ومن المحتمل أيضا فوتوتروبين١ . وتضيف الدراسة أيضا إلى أن عودة النواة والبلاستيدات لموقعها في غياب الإضاءة يساهم فيه الفوتوتروبين٢ وقد أيد حركة العودة بحث آخر عن الأساسيات الجزيئية لوظيف الفوتوتروبينات (Aihara, *et al.*, 2008)، أي أن النواة والبلاستيدات تتشاركان للحركة 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 فايتوكروم٣ 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) .