

Mehanizam delovanja zelene svetlosti na klijanje semena mišjakinje (*Stellaria media* (L.) Vill.)

*Vladan Jovanović¹, Vaskrsija Janjić¹, Bogdan Nikolić², Zlatko Giba³

¹Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Banatska 31b, 11080 Beograd-Zemun, Srbija

²Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Teodora Drajzera 9, 11000 Beograd, Srbija

³Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Institut za botaniku i Botanička bašta „Jevremovac“,
Takovska 43, 11000 Beograd, Srbija

*e-mail: Vladan.Jovanovic@pestring.org.rs

REZIME

Upoređivan je uticaj zelene i tamnocrvene svetlosti na klijanje semena mišjakinje (*Stellaria media* (L.) Vill.) da bi se utvrdio mogući mehanizam delovanja zelene svetlosti na ovaj proces kod mišjakinje. Pokazano je da kratkotrajno osvetljavanje tamnocrvenom svetlošću tokom prvog dana imbibicije inhibira klijanje u određenom procentu, a zatim počinje da deluje stimulatивно, što je potpuno očigledno tokom drugog dana imbibicije. Zelena svetlost ne inhibira klijanje, a njen stimulativni efekat počinje u isto vreme kada i stimulatvni efekat tamnocrvene svetlosti. Rezultati ukazuju na moguću ulogu fitohroma A u stimulativnom delovanju zelene svetlosti.

Ključne reči: *Stellaria media*, klijanje, zelena svetlost, tamnocrvena svetlost, fitohrom A

UVOD

S obzirom da su sesilni i fotosintetski organizmi, biljke moraju da budu posebno adaptirane na svetlost kao faktor sredine (Neff et al., 2000). Mnoštvo različitih procesa kod biljaka je pod kontrolom svetlosti: klijanje semena, tropizmi, razvoj hloroplasta, izduživanje, pigmentacija, otvaranje i zatvaranje stoma, cvetanje i senescencija (Vierstra, 1993). Otuda ne iznenađuje da su biljke opremljene sofisticiranim fotoreceptorskim sistemima sposobnim da prate spoljne svetlosne uslove i da neprestano prilagođavaju svoje fiziološke i razvojne procese u odnosu na svetlost (Mathews, 2006).

Zelena svetlost niskog inteziteta se koristi u laboratorijskim uslovima prilikom manipulacije semenom jer je dugo bila poznata kao fiziološki neaktivna. Međutim, postoji izvestan broj biljnih vrsta čija semena reaguju i na zelenu svetlost pod određenim uslovima. U literaturi je

poznato da i semena mišjakinje (*Stellaria media* (L.) Vill.) mogu biti stimulisana na klijanje zelenom svetlošću (Baskin and Baskin, 1979). Zbog nedovoljnog poznavanja osobina i raznovrsnosti fitohroma, biljnih pigmentata koji učestvuju u percepciji svetlosti, u to vreme nije bilo ponuđeno adekvatno objašnjenje.

Mišjakinja se najčešće sreće kao sastavni deo korovske flore u gajenim usevima, vrtovima i na manjim parcelama. Često se nalazi kako u ozimim, tako i jarim žitaricama, kao i u povrtarskim usevima, uprkos različitim režimima obrade zemljišta (Fryer and Chancellor, 1970).

Klijanje semena mišjakinje je izuzetno varijabilno zbog bogate genetičke raznovrsnosti (evidentirane su brojne subpopulacije), kao i zbog visoke osetljivosti semena na sve bitnije ekološke faktore (Van der Vegte, 1978; Sobey, 1981).

U ovom radu je ispitivan, u laboratorijskim uslovima, uticaj zelene i tamnocrvene svetlosti na klijanje semena mišjakinje, sa ciljem da se utvrdi mogući mehanizam delovanja zelene svetlosti.

MATERIJAL I METODE

Semena *S. media* su sakupljena na lokalitetu u Beogradu. Sva semena su pripadala biljkama iste populacije. Do upotrebe su čuvana na sobnoj temperaturi, u mraku.

Po 100 semena je odbrojavano u Petri kutije, prečnika 6 cm, u koje je dodavano po 2 ml destilovane vode. Petri kutije sa semenima su osvetljavane tamnocrvenom ili zelenom svetlošću u različito vreme od početka imbibicije.

Po završetku osvetljavanja Petri kutije su držane u termostatu do brojanja prokljalih semena. Vreme koje su semena provela u termostatu je variralo od četiri do pet dana od poslednjeg osvetljavanja u eksperimentu. Temperatura u termostatu je bila $21,5 \pm 2^\circ\text{C}$.

Kao izvor tamnocrvene svetlosti korišćene su inkadescentne cevi Osram Linestra 120/235 i plastični filtri (3 mm) Rohm and Haas No. 501 (crveni) i No. 627 (plavi). Gustina fotonskog fluksa izvora tamnocrvene svetlosti iznosila je $0,139 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Gustina fotonskog fluksa zelenog izvora svetlosti iznosila je $0,8 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Statistička obrada svih podataka urađena je pomoću računarskog programa Statgraphics, verzija 4.2 (STSC Inc. and Statistical Graphics Corporation, 1985-1989, USA). Za određivanje statističke značajnosti razlika između srednjih vrednosti korišćeni su analiza varijanse (ANOVA) i test najmanjih statistički značajnih razlika (LSD) na nivou značajnosti $p < 0,05$. Slova iznad vrednosti klijanja pojedinačnih uzoraka na graficima, ili pored oznake za kontrolne vrednosti, predstavljaju rezultate statističke analize, uzorci koji imaju bar jedno isto slovo međusobno se ne razlikuju statistički značajno.

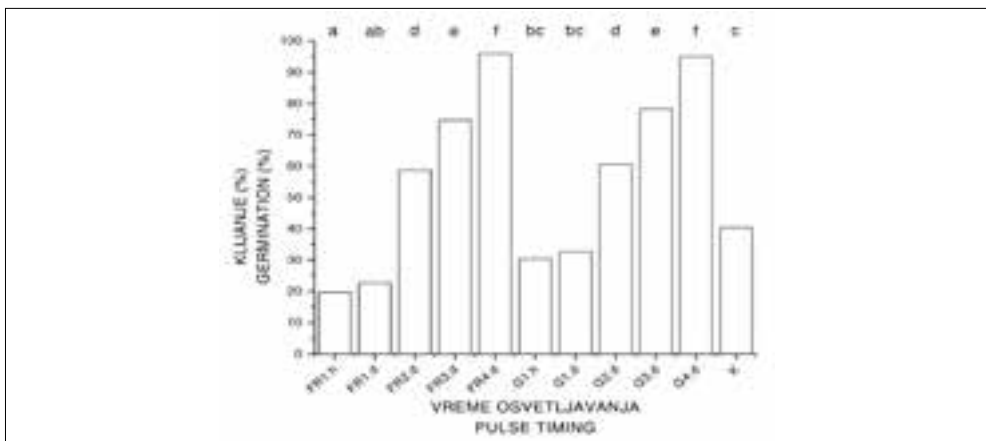
REZULTATI

Semena osvetljavana zelenom i semena osvetljavana tamnocrvenom svetlošću tokom prva četiri dana imbibovanja su slično klijala (grafikon 1). Razlike se javljaju jedino u klijanju pri

osvetljavanju posle jednog sata i jednog dana imbibicije. Zelena svetlost pri osvetljavanjima u tim terminima ne utiče na klijanje, dok osvetljavanje tamnocrvenom svetlošću inhibira klijanje. Zelena svetlost je imala isti efekat na klijanje bilo da je dužina osvetljavanja bila 5 minuta, bilo jedan sat (nije prikazano).

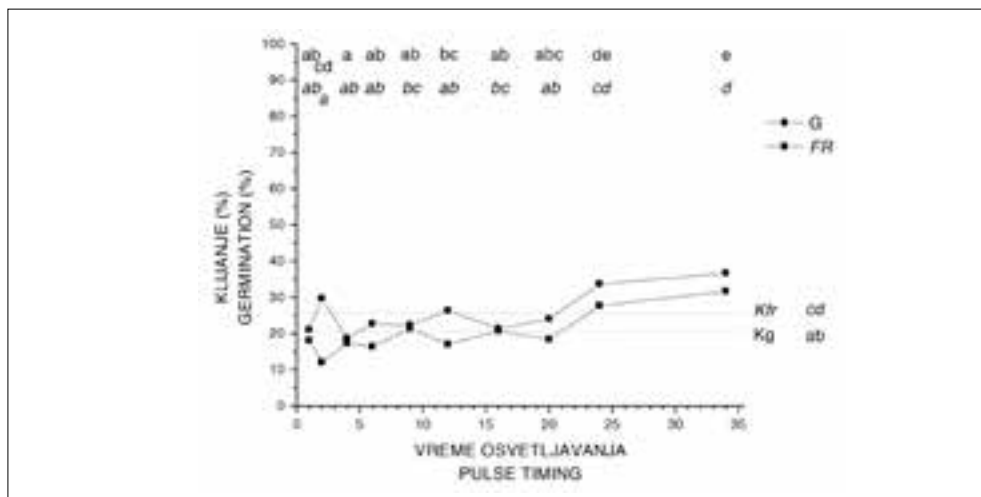
Ako uporedimo klijanje semena osvetljenih tamnocrvenom svetlošću sa klijanjem semena osvetljenih zelenom svetlošću (grafikon 2) vidimo da postoji sličnost u odgovoru na petominutne impulse tamnocrvene i zelene svetlosti u zavisnosti od dužine vremena imbibovanja pre osvetljavanja. Klijanje semena ima sličnu dinamiku. Razlika je u tome što se klijanje semena osvetljenih zelenom svetlošću ne razlikuje statistički značajno od klijanja kontrolnih (neosvetljenih) semena do 20. sata imbibicije, a zatim postaje statistički značajno veće, dok je klijanje semena osvetljenih tamnocrvenom svetlošću inhibirano do 20. sata imbibovanja, a pri osvetljavanju 24. i 34. sata se ne razlikuje statistički značajno od klijanja kontrolnih semena, ali se uočava tendencija rasta procenta prokljalih semena.

U proveri interakcije tamnocrvene i zelene svetlosti semena su nakon osvetljavanja 5 minuta tamnocrvenom svetlošću u različito vreme tokom prva 23 sata imbibicije osvetljavana još i 20 minuta zelenom svetlošću posle 26 sati imbibovanja (grafikon 3). Klijanje se nije statistički značajno menjalo u zavisnosti od vremena kada su semena osvetljavana tamnocrvenom svetlošću, osim prilikom osvetljavanja na samom početku imbibovanja. Međutim, klijanje semena osvetljenih tamnocrvenom svetlošću i zelenom svetlošću je statistički značajno veće od klijanja kontrolnih semena (K) i semena koja su osvetljena samo tamnocrvenom svetlošću na samom početku imbibovanja (FR), a statistički značajno manja od semena koja su osvetljena samo zelenom svetlošću 26. sata (G) i od semena koja su osvetljena tamnocrvenom svetlošću na početku imbibovanja i crvenom svetlošću posle 28 sati imbibovanja (R). Osvetljavanje crvenom svetlošću je korišćeno kao pozitivna kontrola stimulativnog dejstva zelene svetlosti.



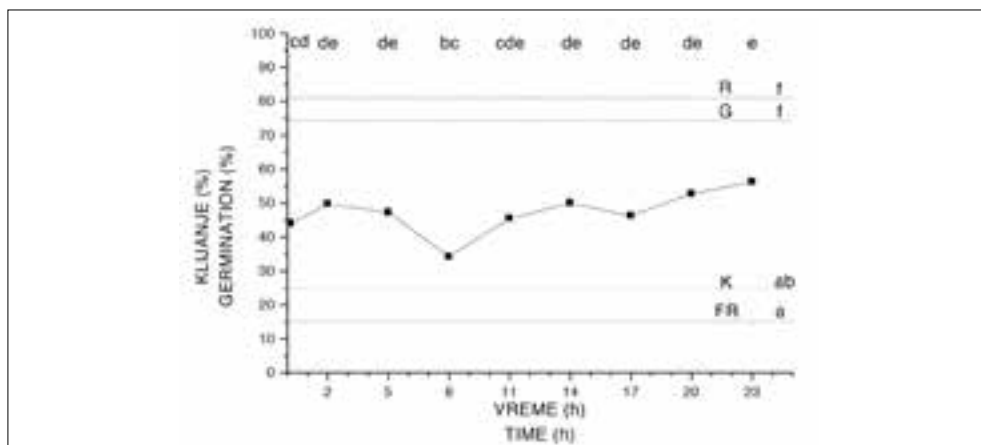
Grafikon 1: Klijanje semena mišjakinje u mraku nakon osvetljavanja petominutnim impulsom tamnocrvene (FR) ili zelene (G) svetlosti u različito vreme tokom prva četiri dana (d) imbibicije; K - kontrola

Fig. 1: Germination of common chickweed seeds in the dark after irradiation with 5-minute pulse of far-red (FR) or green (G) light at different times during initial four days (d) of imbibition; K – control



Grafikon 2: Klijanje semena mišjakinje u mraku nakon osvetljavanja petominutnim impulsom zelene (G) ili tamnocrvene (FR) svetlosti u različito vreme tokom prvih 34 sata imbibicije; Kg – kontrola za zelenu svetlost; Kfr – kontrola za tamnocrvenu svetlost

Fig. 2: Germination of common chickweed seeds in the dark after irradiation with 5-minute pulse of green (G) or far-red (FR) light at different times during initial 34 hours of imbibition; Kg – control for green light; Kfr – control for far-red light



Grafikon 3: Klijanje semena mišjakinje u mraku nakon osvetljavanja 5 minuta tamnocrvenom svetlošću u različito vreme od početka imbibicije i 20 minuta zelenom svetlošću posle 26 sati imbibicije

G – semena koja su osvetljena samo 20 minuta zelenom svetlošću posle 26 sati imbibicije; K – kontrola, semena sve vreme u mraku; FR – semena osvetljena 5 minuta tamnocrvenom svetlošću na početku imbibicije, ostalo vreme u mraku; R – semena osvetljena 5 minuta tamnocrvenom svetlošću na početku imbibicije i 5 minuta zelenom svetlošću posle 28 sati imbibicije.

Figure 3. Germination of common chickweed seeds in the dark after 5 min. pulse of far red light at different times during imbibition and 20 min. pulse of green light after 26 h of imbibition.

G – seeds illuminated with green light for 20 min. following 26 h of imbibition; K – control, seeds kept in the dark throughout the experiment; FR – seeds illuminated for 5 min. with far red light at the beginning of imbibition and kept in the dark for the remaining period; R – seeds illuminated for 5 min. with far red light at the beginning and with red light after 28 h of imbibition

Ove dve poslednje grupe semena (G i R) se nisu međusobno statistički značajno razlikovale u procentu klijanja. Dakle, tamnocrvena svetlost je umanjila stimulatívni efekat zelene svetlosti u sličnoj meri tokom prvih 23 sata imbibovanja. Klijanje semena osvetljenih samo tamnocrvenom svetlošću na samom početku imbibicije (FR) se nije statistički značajno razlikovalo od klijanja kontrolnih semena (K) koja su sve vreme provela u mraku kada je statistička značajnost razlika računata za sve grupe zajedno (prikazano na grafikonu 3), ali se jeste statistički značajno razlikovala kada su analizirane samo te dve grupe, ili kada su analizirane sve grupe osim semena iz grupe R.

DISKUSIJA

U našim eksperimentima smo pošli od pretpostavke da zelena svetlost stimuliše klijanje semena mišjakinje aktiviranjem fitohroma A, koji može da apsorbuje svetlost u tom delu spektra. Kako je bolje poznato dejstvo tamnocrvene svetlosti na klijanje semena preko fitohroma A, uporedili smo delovanje zelene i tamnocrvene svetlosti na klijanje mišjakinje.

Delovanje tamnocrvene svetlosti na klijanje semena mišjakinje je imalo tri različite faze, zavisno od vremena od početka imbibicije do osvetljavanja. U prvoj fazi, koja je trajala do oko dvadesetog sata imbibicije, tamnocrvena svetlost je delovala inhibitorno (grafikoni 1 i 2). U sledećoj fazi, koja je trajala do nešto duže od prvog dana imbibicije, tamnocrvena svetlost nije dovodila do statistički značajnih promena u procentu klijanja (grafikon 2). U trećoj fazi, koja je počinjala u periodu između prvog i drugog dana imbibicije, tamnocrvena svetlost je ispoljavala stimulatívni efekat na klijanje semena mišjakinje (grafikon 1).

Osobina tamnocrvene svetlosti da na klijanje semena mišjakinje deluje i inhibitorno i stimulatívno, kao i da bude neutralna, potiče od različitih reakcija fitohroma A i fitohroma B. Tamnocrvena svetlost prevodi aktivnu formu fitohroma B u neaktivnu formu. Tokom sazrevanja u semenima se, pod uticajem svetlosti iz crvenog dela spektra, akumulira aktivna forma fitohroma B, koja dovodi do klijanja semena u potpunom mraku (Hayes and Klein, 1974; Shinomura et al., 1994; Casal et al., 1997). Osvetljavanje tamnocrvenom svetlošću semena mišjakinje pre nego što je uloga prisutnog aktivnog fitohroma B završena u procesu klijanja dovodilo je do njegovog deaktiviranja i smanjenog procenta klijanja u odnosu na kontrolna semena u mraku, odnosno do inhibicije klijanja.

Osvetljavanje semena tamnocrvenom svetlošću, nakon što je prisutni aktivni fitohrom B odigrao svoju ulogu u klijanju u mraku, nema više efekta, odnosno, tamnocrvena svetlost postaje neutralna. Izgleda da se u semenima mišjakinje delovanje aktivnog fitohroma B prisutnog od faze sazrevanja završava oko 20. sata od početka imbibicije jer tada prestaje inhibitorno dejstvo tamnocrvene svetlosti.

Stimulatívno delovanje tamnocrvena svetlost ostvaruje aktiviranjem fitohroma A. Shinomura i saradnici (1996) su konstatovali da tamnocrvena svetlost stimuliše klijanje biljke *Arabidopsis thaliana* aktiviranjem fitohroma A i to ne pre petnaestog sata imbibicije na 25°C u mraku. Stimulacija je mogla sa sigurnošću da bude evidentirana posle 24 sati imbibicije,

maksimalnu vrednost je dostizala nakon 48 sati imbibicije, a postepeno je opadala posle trećeg dana imbibovanja. Kod semena mišjakinje stimulacija najčešće počinje nešto kasnije, negde između 24 i 48 sati imbibicije. Da li to označava i vreme potrebno da dođe do sinteze dovoljne količine fitohroma A za stimulaciju klijanja nakon osvetljavanja teško je reći, jer nije ustanovljeno da li neutralna faza delovanja tamnocrvene svetlosti predstavlja period kada je fitohrom B završio svoje delovanje, ili period kada dolazi do nestabilne ravnoteže usled deaktiviranja fitohroma B i aktiviranja fitohroma A sintetisanog u još nedovoljnoj količini da bi omogućio vidljivu stimulaciju. Izvesno kašnjenje u formiranju fitohroma A u semenima mišjakinje u odnosu na semena biljke *Arabidopsis thaliana* (vidljivo i po vremenu postizanja maksimuma stimulacije, gde semenima mišjakinje treba četiri dana, dva dana više nego semenima biljke *Arabidopsis thaliana*) može biti uslovljeno, osim genetičkim razlikama, veličinom semena (krupnijim semenima mišjakinje sigurno treba više vremena za usvajanje vode i kompletiranje biohemijskih procesa), a naročito nižom temperaturom imbibovanja semena mišjakinje u našim eksperimentima (semena mišjakinje su imbibovana na nekoliko stepeni nižim temperaturama, što je verovatno donekle umanjilo brzinu odvijanja reakcija).

Zelena svetlost može da izazove aktivaciju fitohroma A, ali fitohrom B može biti aktiviran i zelenom svetlošću talasne dužine 540 nm (Shinomura et al., 1996, 2000). Međutim, za aktivaciju fitohroma A je potrebna za četiri reda veličine manja energija svetlosti, pa je logično bilo pretpostaviti da u stimulaciji klijanja semena mišjakinje zelena svetlost deluje preko fitohroma A. Pri uporednom osvetljavanju semena mišjakinje zelenom ili tamnocrvenom svetlošću (grafikon 1), procenti proklijalih semena osvetljenih drugog, trećeg, ili četvrtog dana ne samo da se nisu statistički značajno razlikovali, već su i njihove srednje vrednosti bile gotovo identične. Jedina razlika je postojala pri osvetljavanju nakon prvog sata i nakon prvog dana imbibovanja, kada je tamnocrvena svetlost inhibirala klijanje, dok zelena svetlost nije imala uticaja. Ova razlika može nastati samo tako što je pri tim osvetljavanjima još od perioda sazrevanja u semenima prisutni aktivni fitohrom B deaktiviran tamnocrvenom svetlošću, dok fitohrom A još nije bio sintetisan da bi bio aktiviran bilo tamnocrvenom bilo zelenom svetlošću. Upoređivanjem uticaja osvetljavanja zelenom i tamnocrvenom svetlošću pri kraćim intervalima (grafikon 2) uočava se sinhronizovano povećanje procenta klijanja posle osvetljavanja semena nakon dvadesetog sata imbibicije.

Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da u regulisanju klijanja semena mišjakinje svetlošću učestvuju fitohrom A i fitohrom B, a da zelena svetlost stimuliše klijanje aktiviranjem fitohroma A.

ZAHVALNICA

Istraživanja predstavljena u ovom radu deo su projekata TR 31043 i TR 31037, koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

- Baskin, J.M. and Baskin, C.C.:** Promotion of germination of *Stellaria media* seeds by light from a green safe lamp. *New Phytologist*, 82, 381-383, 1979.
- Casal, J.J., Sanchez, R.A., Yanovsky, M.J.:** The function of phytochrome A. *Plant, Cell and Environment*, 20, 813-819, 1997.
- Fryer, J.D. and Chancellor, R.J.:** Herbicides and our changing weeds. In: Perring, F. (Ed.), *The flora of a changing Britain*, Pendragon Press, Hampton, 105-118, 1970.
- Hayes, R.G. and Klein, W.H.:** Spectral quality influence of light during development of *Arabidopsis thaliana* plants in regulating seed germination. *Plant Cell Physiology*, 15, 643-653, 1974.
- Mathews, S.:** Phytochrome-mediated development in land plants: red light sensing evolves to meet the challenges of changing light environments. *Molecular Ecology*, 15, 3483-3503, 2006.
- Neff, M.M., Fankhauser, C., Chory, J.:** Light: An indicator of time and place. *Genes and Development*, 14, 257-271, 2000.
- Shinomura, T., Nagatani, A., Chory, J., Furuya, M.:** The induction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* is regulated principally by phytochrome B and secondarily by phytochrome A. *Plant Physiology*, 104, 363-371, 1994.
- Shinomura, T., Nagatani, A., Hanzawa, H., Kubota, M., Watanabe, M., Furuya, M.:** Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 93, 8129-8133, 1996.
- Shinomura, T., Uchida, K., Furuya, M.:** Elementary processes of photoperception by phytochrome A for high-irradiance response of hypocotyl elongation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 122, 147-156, 2000.
- Sobey, D.G.:** *Stellaria media* (L.) Vill. *Journal of Ecology*, 69, 311-335, 1981.
- Van der Vegte, F.W.:** Population differentiation and germination ecology in *Stellaria media* (L.) Vill. *Oecologia*, 37, 231-245, 1978.
- Vierstra, R.D.:** Illuminating phytochrome functions. *Plant Physiology*, 103, 679-684, 1993.

The mechanism of activity of green light on seed germination of common chickweed (*Stellaria media* (L.) Vill.)

SUMMARY

The effects of green and far red light on germination of common chickweed (*Stellaria media* (L.) Vill.) seeds were compared to determine a possible mechanism of activity of green light in the germination process of chickweed. A brief irradiation with far red light on the first day of imbibition was found to inhibit germination at a certain percentage but it was followed by a stimulating effect, which became evident on the second day of imbibition. Green light was not found to inhibit germination and its stimulating effect began simultaneously with the stimulating effect of far red light. The results indicate a possible role of phytochrome A in stimulation by green light.

Keywords: *Stellaria media*, germination, green light, far red light, phytochrome A