

**Wpływ światła oraz miejsca jego percepcji na kwitnienie
*Pharbitis nil***

**MAGDALENA NOCNY^{1,2}, ALINA TREJGELL¹,
ANDRZEJ TRETYN¹**

¹Zakład Biotechnologii, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, ul. Gagarina 9, 87 100 Toruń

²Pracownia Dydaktyki, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Mikołaja Kopernika,
ul. Gagarina 9, 87 100 Toruń

¹Department of Biotechnology, Institute of General and Molecular Biology,
Nicolaus Copernicus University, ul. Gagarina 9, 87 100 Toruń

²Laboratory of Didactics, Faculty of Biology and Earth Sciences,
Nicolaus Copernicus University, ul. Gagarina 9, 87 100 Toruń

**The influence of light and the place of its perception on the flowering
of *Pharbitis nil***

(Otrzymano: 5.05.2005)

S u m m a r y

The determination of the influence of light and the place of its perception on the flowering of a short day plant *Pharbitis nil* were the aims of the study. After germination, the seedlings were cultivated under long photoperic regime then, after development of cotyledons, the first or the second leaf, they were subjected to an inductive night. It was shown that both the cotyledons and leaves are the places of perception of photoperiodic stimuli. However, the plants having only the cotyledons generated smaller number of flower buds in comparison with the plants with the cotyledons removed but having the first, the second or both leaves. It was also determined that the flowering response is practically independent of the area of leaves subjected to induction. Also the setting of apical inflorescences with 2, 3 or 4 flowers was independent of place of perception (the first or the second leaf) of the photoperiodic stimulus.

Key words: *Pharbitis nil*, photoperiod, flowering

WSTĘP

Proces kwitnienia jest wynikiem przejścia merystemu wierzchołkowego pędu z drogi wzrostu wegetatywnego na drogę rozwoju generatywnego. Przejście to jest przełomowym wydarzeniem w rozwoju rośliny, któremu towarzyszą głębokie zmiany w organizacji oraz aktywności merystemu wierzchołkowego pędu (Gifford, 1963; Bernier i in.; 1993; Sussex i Kerk, 1990). Ten złożony proces morfogenetyczny kontrolowany jest zarówno przez czynniki wewnętrzne sterowane genetycznie, jak i czynniki zewnętrzne środowiskowe (Vince-Prue i Gressel, 1985; Tretyń i Kopcewicz, 1999a,b, 2003). Czynniki te to: fotoperiod (długość dnia), jakość światła (długość fali), wernalizacja (ekspozycja na okres zimna), dostępność wody i substancji odżywczych (Tretyń i Kopcewicz, 1999a). Kwitnienie może być również indukowane przez warunki stresowe np.: deficyt substancji odżywczych, susza czy zagęszczenie osobników (Leavy i Dean, 1998).

Roślina jest zdolna do odbioru bodźców indukujących kwitnienie po osiągnięciu określonego stadium dojrzałości. Długość fazy młodocianej (juwenilnej) jest uwarunkowana genetycznie i w zależności od gatunku może wahać się od kilku dni (np. *Pharbitis nil*) do kilkudziesięciu lat (np. buk). Dopiero po przejściu tej fazy roślina uzyskuje gotowość do kwitnienia i wówczas wzorec różnicowania się wierzchołków wzrostu ulega zmianie. W obrębie merystemów wierzchołkowych zamiast zawiązków liściowych i pąków kątowych zaczynają wytwarzać się organy rozmnażania generatywnego kwiaty lub kwiatostany (Tretyń i Kopcewicz, 1999a).

Istotnym czynnikiem indukującym kwitnienie u wielu roślin jest światło, które w cyklach dobowych występuje na przemian z okresami ciemności. Fotoperiodyzm jest reakcją roślin na czas trwania i periodyczne następstwo okresów światła i ciemności w cyklach dobowych. Po raz pierwszy zjawisko to zostało opisane przez Garnera i Allarda w 1920 roku. Istotą indukcji fotoperiodycznej jest percepcja przez roślinę właściwego dla niej fotoperiodu, co w konsekwencji powoduje uruchomienie łańcucha reakcji metabolicznych prowadzących do morfogenezy kwiatu (Tretyń i Kopcewicz, 1999a).

Ze względu na wymagania fotoperiodyczne wyróżnić można: rośliny dnia krótkiego, które kwitną, gdy w dziennym fotoperiodzie jest przewaga fazy ciemnej (wilec wielkokwiatowy, złocień chiński); rośliny dnia długiego kwitnące, gdy w dziennym fotoperiodzie jest przewaga fazy jasnej (koper ogrodowy, rzodkiewnik pospolity), oraz rośliny neutralne, nie wykazujące wrażliwości na długość dnia i nocy (pomidor, ryż siewny).

Organami odpowiedzialnymi za percepcję bodźca świetlnego są liście bądź liścienie, w których powstaje określony impuls zwany induktorem kwitnienia (Tretyń i Kopcewicz, 1999a). Przypuszcza się, że po zaistnieniu odpowiedniego fotoperiodu w liścieniach powstaje nieznany dotąd impuls lub induktor, który jest transportowany do wierzchołków wzrostu pędu, gdzie zapoczątkowuje przemiany biochemiczne, anatomiczne i morfologiczne prowadzące do przekształcenia wierzchołka wzrostu wegetatywnego w generatywny i wytworzenia kwiatów (Bernier i in., 1993; O g a w a , 1993b; K o n d o h i in., 1999a,b).

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy

Jako materiał badawczy stosowano krótkodenną roślinę *Pharbitis nil* Choisy (wilec) należącą do rodziny *Convolvulaceae*. Do badań użyto japońskiej odmiany ogrodowej *Violet* o dużych, fioletowych kwiatach. U *Pharbitis nil* fotoperiodyczna indukcja kwitnienia zachodzi we wczesnej fazie rozwojowej (po 5-6 dniach od skiełkowania nasion) w odpowiedzi na pojedynczą 16-godzinną długą noc. Zawiązki pąków kwiatowych można obserwować po 10-11 dniach od momentu indukcji (Treny i in., 1997). *Pharbitis nil* zawiązuje najczęściej 6 kwiato**W** bocznyc**h** i jeden szczytowy. Kwiaty wytwarzane są pojedynczo w pachwinach liści, a przylistki kwiatu szczytowego mają pachwinowe pąki kwiatowe tworzące kwiatostan szczytowy z 2, 3 lub 4 kwiata**mi**.

Warunki uprawy roślin

Nasiona *Pharbitis nil* (Marutane Seed Co. Kyoto, Japan), skaryfikowano mechanicznie przez ręczne nacięcie łupiny nasiennej skalpelem po przeciwnej stronie okienka mikropylarnego. Po skaryfikacji nasiona zalewano wodą destylowaną i pozostawiano na okres 24 godzin do spęcznienia w temperaturze pokojowej. Po spęcznieniu nasiona wysiewano do doniczek z ziemią ogrodniczą, po 10-12 nasion do doniczki. Dla zwiększenia wilgotności podłoża doniczki do momentu wykiełkowania przykrywano folią polietylenową. Siewki uprawiano w temperaturze 25°C, w pomieszczeniu wyposażonym w wysokoprężne lampy sodowe SON-T AGRO 400 [N] emitujące promieniowanie fotosyntetycznie czynnym (PAR) o natężeniu 102 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Uprawę prowadzono w warunkach zmiennego fotoperiodu: 16 godzin światła, i 8 godzin ciemności.

Badanie miejsca percepcji bodźca fotoperiodycznego

Doświadczenia prowadzono w 4 wariantach. W pierwszym (I), kontrolnym, 5 dniowe siewki zawierające dwa dobrze wykształcone liścienie poddawano działaniu 16-godzinnej indukcyjnej nocy. W wariacie drugim (II) rośliny hodowano przez 9 lub 10 dni, do momentu wytworzenia pierwszego liścia. Z roślin tych, na godzinę przed rozpoczęciem indukcyjnej nocy usuwano obydwa liścienie (ryc. 1A). W kolejnym wariacie (III) rośliny uprawiano przez 14 dni na nieindukcyjnym fotoperiodzie. Z roślin tych, zawierających liścienie i dwa pierwsze liście, na godzinę przed potraktowaniem ich indukcyjną nocą usuwano liścienie i pierwszy liść (ryc. 1B). W czwartym (IV) wariacie doświadczenia z 14-dniowych roślin z wykształconymi dwoma liśćmi, na godzinę przed rozpoczęciem fotoperiodycznej indukcji usuwano jedynie liścienie.

Przed indukcją na papierze milimetrowym delikatnie odrysowano pierwszy (wariant II), drugi (wariant III) lub obydwa liście (wariant III). Rośliny poddawane fotoperiodycznej indukcji przenoszono na okres 16 godzin do ciemnego termostatu o temperaturze 23°C. Po jej zakończeniu rośliny przenoszono do fitotronów i uprawiano

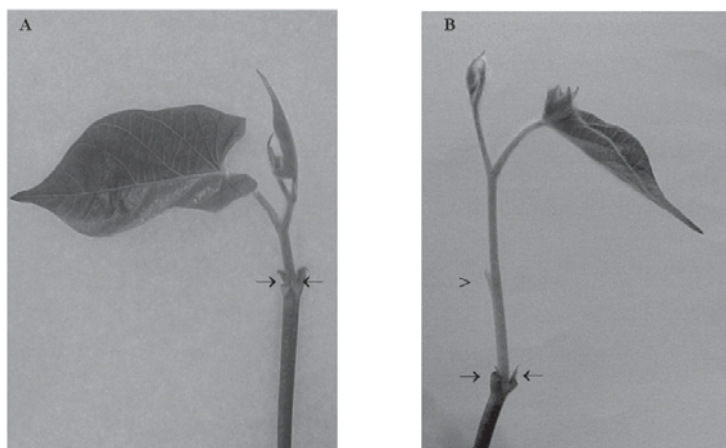
na długim fotoperiodzie (16 godzin światła, 8 godzin ciemności). Do czasu indukcji rośliny podlewano wodą destylowaną, natomiast w późniejszym okresie stosowano płynną, komercyjnie dostępną pożywkę Florovit.

Po 21 dniach uprawy liczono pąki wegetatywne i generatywne na każdej roślinie, a po około 2-3 miesiącach ustalano, które rośliny zawiązały kwiatostan szczytowy z 2, 3 lub 4 kwiatami. Wszystkie doświadczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

WYNIKI I DYSKUSJA

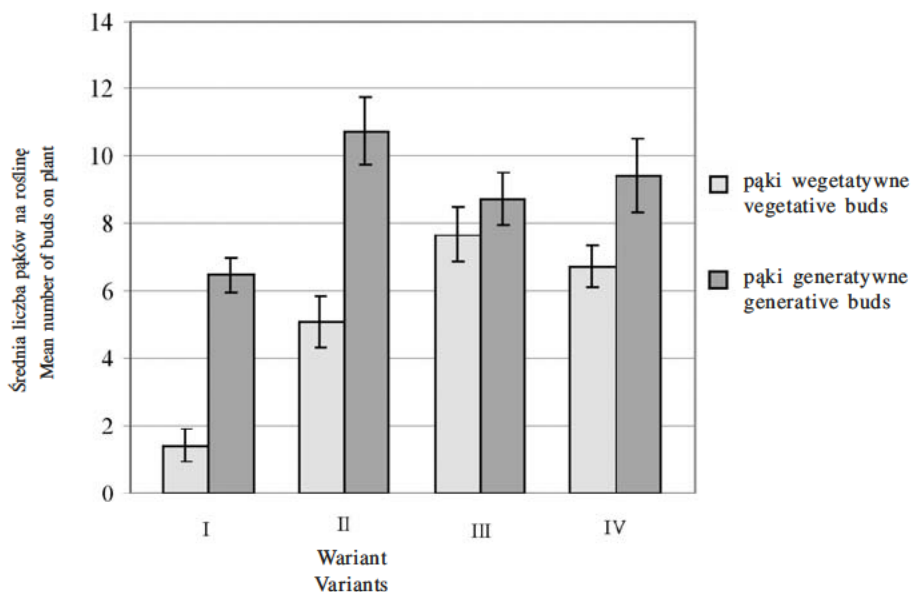
Wyniki przeprowadzonych doświadczeń pozwoliły stwierdzić, że u *Pharbitis nil* poza liścieniami, również młode liście są miejscem percepcji tego bodźca. Zarówno rośliny z pierwszym, jak i drugim liściem oraz obydwoma liśćmi poddane 16-godzinnej indukcji wytworzyły pąki generatywne.

Ustalono także, iż rośliny z pierwszym liściem (ryc. 1A) zawiązują najwięcej pąków kwiatowych w stosunku do roślin z pozostałych wariantów (ryc. 2). Wykształcały one średnio 10,7 pąków generatywnych na roślinę, co w stosunku do kontroli (średnio 6,4 pąka na roślinę) było istotną, prawie dwukrotną różnicą. Rośliny z drugim (ryc. 1B) i obydwoma liśćmi wytworzyły nieco mniej, bo odpowiednio po około 8,7 i 9,1 pąków kwiatowych, znacznie więcej niż rośliny kontrolne, zawierające jedynie liścienie (ryc. 2).



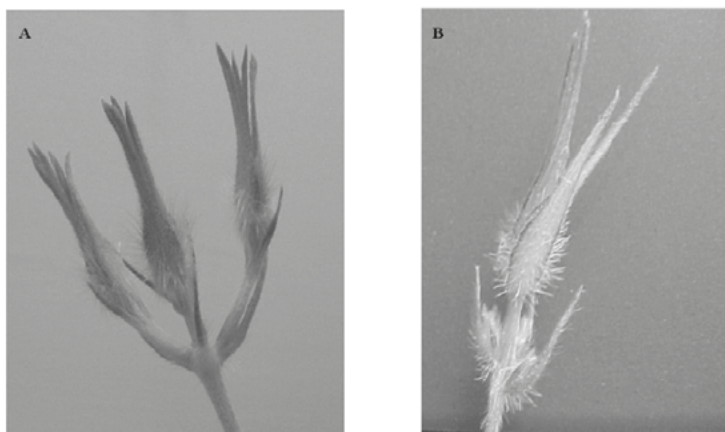
Ryc. 1. Rośliny *Pharbitis nil* z rozwiniętym pierwszym (A) i drugim liściem (B). W pierwszym przypadku przed indukcją usunięto obydwie liścienie (strzałki), a w drugim zarówno liścienie (strzałki) jak i pierwszy liść (grot strzałki).

Fig. 1. The *Pharbitis nil* plants with the 1st (A) and the 2nd (B) leaf developed. In the first case both cotyledons were removed before the inductive night (arrows), while in the second one both the cotyledons as well as the first leaf (arrow tip) were excised.



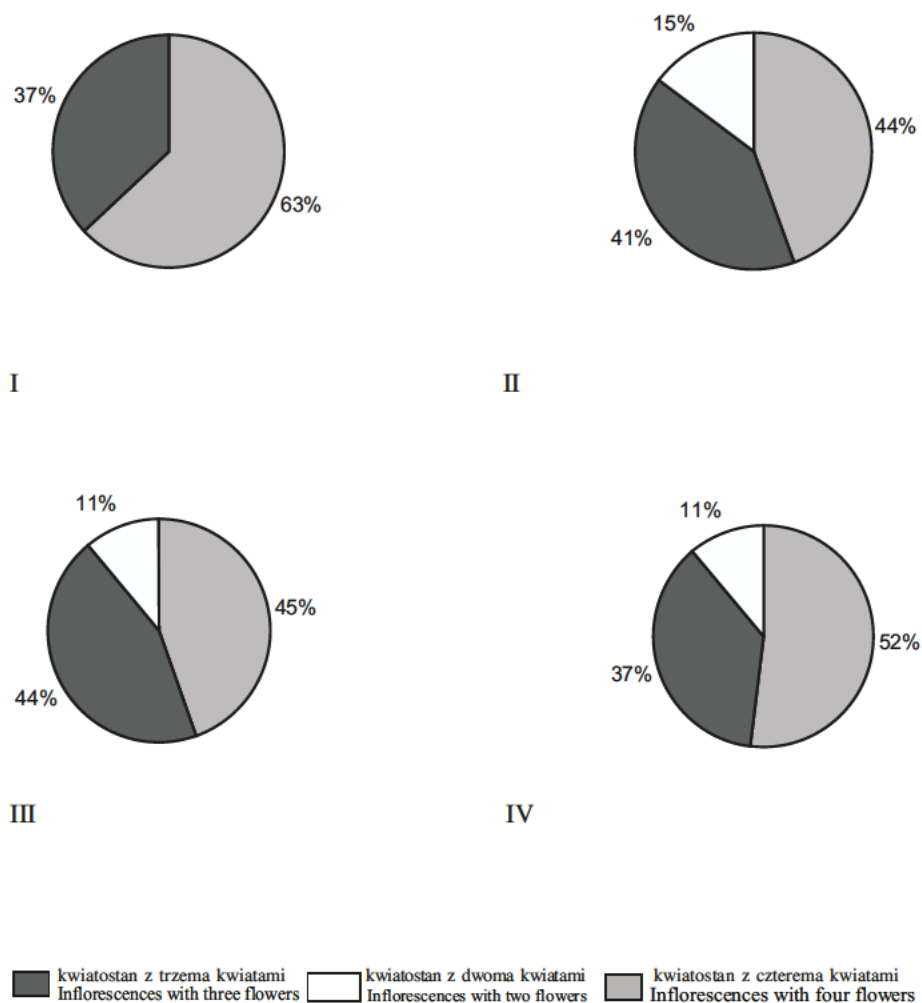
Ryc. 2. Wytwarzanie pąków wegetatywnych i generatywnych przez siewki *Pharbitis nil*. w zależności od indukowania liści (I), pierwszego liścia (II), drugiego liścia (III), i obu liści (IV).

Fig. 2. Formation of the vegetative and generative buds by *Pharbitis nil* seedlings in relation to the cotyledons (I), first leaf (II), second leaf (III) or both leaves induction (IV).



Ryc. 3. Kwiatostan szczytowy *Pharbitis nil* z trzema pąkami kwiatowymi (A) i z czterema pąkami kwiatowymi (B).

Fig. 3. The apical inflorescence of *Pharbitis nil* with three (A) or four (B) floral buds.



Ryc. 4. Wytwarzanie zróżnicowanych kwiatostanów szczytowych u *Pharbitis nil* w zależności od indukowania liścieni (I), pierwszego liścia (II), drugiego liścia (III) i obu liści (IV).

Fig. 4. Formation of different types of apical inflorescences in relation to the induction applied to the cotyledons (I), the first (II), second Leaf (III) or both leaves (IV).

Tabela 1
Wpływ powierzchni liści na liczbę wytworzonych pąków.

Table 1
The influence of the leaf area on number a development buds.

Wariant II – pierwszy liść VARIANT II – first leaf			Wariant III – drugi liść VARIANT III – second leaf			Wariant IV – oba liście VARIANT IV – both leaves		
Powierzchnia Area cm ²	Pąki generatywne Generative buds	Pąki wegetatywne Vegetative buds	Powierzchnia Area cm ²	Pąki generatywne Generative buds	Pąki wegetatywne Vegetative buds	Powierzchnia Area cm ²	Pąki generatywne Generative buds	Pąki wegetatywne Vegetative buds
5,7	10	6	5,5	7	7	24,2	10	7
6,6	9	6	5,8	8	7	26,7	8	7
7,2	9	5	6,3	9	8	26,8	6	6
8,3	10	5	6,5	8	7	29,1	9	6
8,4	11	5	7,5	9	7	29,3	10	7
8,6	12	4	7,7	8	8	31,1	9	7
8,9	12	6	7,9	9	9	32,0	10	8
8,9	12	4	7,9	9	7	32,0	11	7
9,1	11	5	8,0	8	8	32,0	10	8
9,1	11	4	8,6	9	8	32,2	11	8
9,1	12	4	8,7	10	9	32,6	9	6
9,1	10	6	8,8	9	6	33,0	8	7
9,5	11	5	8,8	9	8	34,1	11	6
9,6	11	4	9,1	10	7	34,4	10	6
9,7	11	4	9,2	8	7	34,5	10	7
9,7	12	4	9,3	8	8	34,5	11	6
9,8	10	6	9,5	8	8	36,5	9	7
9,9	12	5	9,6	10	8	36,6	9	7
10,4	11	4	9,7	8	7	37,1	9	7
10,5	11	6	10,6	9	7	37,4	10	7
10,6	11	5	10,6	10	9	37,6	8	7
10,6	11	5	10,7	8	7	39,6	9	6
11,0	12	5	10,8	9	8	40,0	10	7
12,1	10	5	10,8	9	8	41,0	9	6
12,1	11	6	11,8	9	8	43,5	9	6
12,9	8	5	12,1	9	7	46,6	10	6
12,9	11	6	15,1	8	9	47,8	10	7
średnia mean 9,6	średnia mean 10,7	średnia mean 5,0	średnia mean 9,1	średnia mean 8,7	średnia mean 7,6	średnia mean 34,8	średnia mean 9,4	średnia mean 6,7

Prowadzone przez nas badania pozwoliły również ustalić, że powierzchnia liści poddanych fotoperiodycznej indukcji nie wpływa znacząco na ilość zawiązywanych pąków generatywnych. Bez względu na całkowitą powierzchnię liści rośliny wytwarzały podobną liczbę pąków generatywnych i wegetatywnych (Tabela 1).

Analizowane rośliny zawiązywały kwiatostany szczytowe z 2, 3 lub 4 kwiatami. Na to zróżnicowanie nie miało wpływu czy indukowane były liścienie, pierwszy, drugi czy oba liście. Okazało się, że najczęściej, bo 63% roślin, u których indukowano liścienie wytwarzało kwiatostany szczytowe z 4 kwiatami (ryc. 3B). Kwiatostany z 3 kwiatami (ryc. 3A) występowały u około 40% roślin, natomiast dwa kwiaty w kwiatostanie wytwarzało jedynie 11-15% (ryc. 4).

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że poza liścieniami miejscem percepcji bodźców fotoperiodycznych u *Pharbitis nil* są również młode liście. Z przedstawionych w powyższej pracy wyników widać, że zarówno pierwszy, drugi jak i oba zaindukowane liście dają odpowiedź fizjologiczną w postaci wytworzonych pąków generatywnych. Do tej pory usuwając lub zakrywając liścienie przed poddaniem siewek indukcji wykazano, że organy te są jedynym miejscem percepcji bodźców fotoperiodycznych (O g a w a i K i n g ; 1990).

Zaobserwowano również, iż rośliny z pierwszym liściem (ryc. 1A) zawiązują więcej pąków kwiatowych niż posiadające jeden lub dwa liścienie (O g a w a i K i n g ; 1990; K o n d o h i i n . , 1990a,b, N a k a n i s h i i i n . , 1995; Głowacka; 2001). Wyniki tych doświadczeń mogą sugerować, że usunięcie liścieni i pozostawienie jednego liścia powoduje zachwianie równowagi między ilością inhibitora do induktora kwitnienia. Przypuszczamy, że w niezaindukowanych liścieniach wytwarzany jest inhibitor kwitnienia, natomiast indukcyjny fotoperiod stymuluje syntezę (bądź uwalnianie) induktora kwitnienia. Zauważono również, że rośliny poddawane indukcyjnemu fotoperiodowi w okresie, gdy zawierały jedynie liścienie wytwarzały mniejszą liczbę węzłów w porównaniu do tych poddawanych indukcji w stadium pierwszego lub drugiego liścia. Na tej podstawie wnioskujemy, że syntetyzowany w liścieniach hipotetyczny induktor kwitnienia uruchamia w wierzchołkach wzrostu *P. nil* realizację „minimalnego” programu genetycznego, prowadzącego do szybkiego wytwarzania ograniczonej liczby pąków kwiatowych. Nie można jednak wykluczyć, że zawiązanie większej liczby kwiatów przez usunięcie liścieni i pozostawienie jednego liścia może być wywołane zranieniem, stymulującym wzmoczoną produkcję organów rozmnażania generatywnego.

W niniejszej pracy stwierdzono, że nie ma istotnych zależności pomiędzy rodzajem wytwarzanych kwiatostanów, a okresem indukcji fotoperiodycznej. Okazało się, że rośliny zawierające pierwszy, drugi lub oba liścienie wytwarzały kwiatostany, w których skład wchodziły 2, 3 bądź 4 pąki generatywne. Na tej podstawie można wnioskować, że substancje napływające do stożka wzrostu z pierwszego, drugiego i obu liści mają podobny charakter morfogenetyczny.

Również powierzchnia liści poddawanych indukcyjnemu fotoperiodowi nie miała istotnego wpływu na odpowiedź kwitnieniową. Rośliny posiadające liście o najmniejszej (5,7 cm²), jak i największej (12,9 cm²) powierzchni wytwarzały podobną liczbę pąków kwiatowych (Tabela 1). Podobne wyniki uzyskał O g a w a i K i n g

(1990) oraz Ogawa (1993a,b) na siewkach *P. nil* zawierających jedynie liścienie. Okazało się, że rośliny zawierające jedynie niewielką część jedynie jednego z liścieni kwitły równie dobrze jak te o obydwoma liścieniami.

WNIOSKI

Na podstawie wyników przeprowadzonych doświadczeń stwierdzamy, iż u *Pharbitis nil*:

miejszem percepcji bodźca świetlnego mogą być zarówno liścienie, jak i liście,

rośliny, którym usuwano liścienie i pozostawiano pierwszy liść wytwarzają znacznie więcej kwiatów niż posiadające jedynie liścienie,

zróżnicowanie kwiatostanu szczytowego nie zależało od tego, czy indukowane były liścienie, pierwszy, drugi liść, czy oba liście

powierzchnia liści nie ma istotnego wpływu na liczbę zawiązanych pąków kwiatowych.

LITERATURA

- Bernier G., Havelange A., Houssa C., Petitjean A., Lejeune P., 1993: Physiological signals that induced flowering. *Plant Cell*. 5: 1147-1155.
- Gifford E. M., 1963: Developmental studies of vegetative and floral meristems. *Brookhaven Symp. Biol.* 16: 126-137.
- Głowacka K., 2001: Ultrastrukturalne i fizjologiczne badania procesu fotoperiodycznej indukcji kwitnienia *Pharbitis nil* Praca doktorska.
- Kondoh M., Murach A., Shigeta Ch., Tanimoto S., 1999a: Flower inducing and inhibiting activities of phloem exudate from cotyledons of *Pharbitis* seedlings. *Plant Growth Regul.* 28: 107-116.
- Kondoh M., Murach A., Shigeta Ch., Tanimoto S., 1999b: Flower may be controlled by a quantitative balance between flowering inducing and inhibiting substances in *Pharbitis nil*. *Plant Growth Regul.* 28: 10-106.
- Leavy Y. Y., Dean C., 1988: The transition to flowering. *Plant Cell*. 10: 1973-1989.
- Nakanishi F., Kusumi T., Inoue Y., Fujii T., 1995: Dihydrokaempferol glucoside from cotyledons promotes flowering in *Pharbitis nil*. *Plant Cell Physiol.* 36.
- Ogawa Y., 1993a: Effects of cotyledon area and gibberellin A₃ on photoperiodic flower induction in *Pharbitis nil* seedlings. *Bull. Fac. Bioresources, Mie Univ.* 10: 195-200.
- Ogawa Y., 1993b: Flowering response of cotyledonary buds in *Pharbitis nil* seedlings. *Bull. Fac. Bioresources, Mie Univ.* 10: 201-214.
- Ogawa Y., King R. W., 1990: The inhibitor of flowering by non induced cotyledons of *Pharbitis nil*. *Plant Cell Physiol.* 31: 129-135.
- Sussex I. M., Kerk N. M., 1990: The origin and development of flowers. *Horticultural Biotechnology*. Wiley-Liss Inc., New York. 173-182.
- Tretyn A., Kopciewicz J., 1999a: Mechanizmy kwitnienia roślin. I. Uwarunkowania fizjologiczno-środowiskowe. *Post. Biol. Kom.* 26: 219-236.

- Tretyń A., Kopcewicz J., 1999b: Mechanizmy kwitnienia roślin. II. Genetyczna i molekularna kontrola indukcji kwitnienia. *Post. Biol. Kom.* 26: 249-266.
- Tretyń A., Kopcewicz J., 2003: Genetyczna kontrola kwitnienia roślin okrytonasiennych. *Kosmos* 52: 379-398.
- Tretyń A., Łukaszevska H., Kopcewicz J., Oleńczuk A., Nowakowska A., 1997: The role of cotyledons in photoperiodic flower induction of *Pharbitis nil*. [W:] *Traveling Shot on plant development*, red., Greppin H., Penel C., Simon P. Uni. Geneva Press: 51-62.
- Vince Prue D., Gressel J., 1985: *Pharbitis nil*. CRC. Handbook of Flowering.

Streszczenie

Celem podjętych badań było określenie wpływu światła oraz miejsca jego percepcji na kwitnienie rośliny dnia krótkiego *Pharbitis nil*. Po wykiełkowaniu nasion rozwijające się rośliny uprawiano przy długim fotoperiodzie, a następnie po wytworzeniu liścieni, pierwszego bądź drugiego liścia poddawano działaniu indukcyjnej nocy. Wykazano, że miejscem percepcji bodźców fotoperiodycznych są zarówno liścienie, jak i liście. Jednakże rośliny zawierające jedynie liścienie zawiązywały mniej pąków kwiatowych w porównaniu do tych, z usuniętymi liścieniami, a posiadającymi pierwszy, drugi lub obydwa liście. Ponadto ustalono, że na odpowiedź kwitnieniową nie ma istotnego wpływu powierzchnia poddawanych indukcji liści. Również zawiązywanie się kwiatostanów szczytowych z 2, 3 lub 4 kwiatami nie zależało od miejsca percepcji (pierwszy bądź drugi liść) bodźca fotoperiodycznego.