ZIELENIEJĄ, ALE NIE Z ZAZDROŚCI – REGULACJA BIOSYNTEZY CHLOROFILU

TO BE GREEN, BUT NOT WITH ENVY – REGULATION OF CHLOROPHYLL BIOSYNTHESIS

Paweł JEDYNAK, Przemysław MALEC

Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Streszczenie: Mechanizmy regulacji biosyntezy chlorofilu w roślinach od lat fascynują badaczy, jednak ich pełne zrozumienie wciąż pozostaje odległym celem badawczym. Tym niemniej regulacja intensywności biosyntezy chlorofilu jest jednym ze sposobów optymalizacji fotosyntezy, procesu który bezpośrednio zależy od warunków środowiska. Dlatego rośliny wykształciły rozmaite mechanizmy percepcji i interpretacji bodźców środowiskowych, co pozwala im na precyzyjne dostosowanie stanu fizjologicznego względem aktualnych warunków. Ważną rolę odgrywają zwłaszcza sygnały świetlne, odbierane za pomocą rozbudowanego systemu komórkowych fotoreceptorów (zwłaszcza fitochromów i kryptochromów), które oddziaływają na aktywność licznych regulatorów transkrypcyjnych, m.in. białek HY5, czy PIF. Mogą one hamować albo aktywować syntezę chlorofilu. W wielu przypadkach ich wpływ jest jednak bardziej subtelny, gdyż regulują selektywnie pewne etapy biosyntezy, nasilając powstawanie konkretnego produktu pośredniego. Integrację sygnałów na poziomie całego organizmu zapewniają natomiast hormony roślinne, przede wszystkim auksyny i cytokininy. Znakomitym przykładem współdziałania szlaków sygnałowych jest zielenienie siewek roślin okrytonasiennych, rozwijających się początkowo w ciemności. Brak światła prowadzi do zablokowania syntezy chlorofilu, ale już krótki błysk światła pozwala na szybkie wznowienie produkcji zielonego barwnika poprzez zmianę aktywności molekularnych przełączników, takich jak białko COP1, kontrolujących całe zespoły genów sterujących różnymi programami rozwojowymi. Niniejszy artykuł krótko podsumowuje dotychczasowy stan wiedzy na temat molekularnych mechanizmów zaangażowanych w regulację procesu biosyntezy chlorofilu w roślinach okrytonasiennych.

Słowa kluczowe: biosynteza chlorofilu, fitohormony, fotoreceptory, światło, ekspresja genów, HY5, COP1

Summary: The regulation of chlorophyll biosynthesis in plants fascinated researchers for years, but still the full understanding of that processes remains a distant goal. In plants, the chlorophyll content must be adequate to actual requirements of photosynthetic activity. Therefore, plants have devel-

oped sophisticated mechanisms of perception and interpretation of environmental stimuli, which allow to fine-tune the rate of chlorophyll biosynthesis in accordance with current environmental conditions. Light plays an important role in that regulation, affecting the activity of a number of transcription factors (like HY5 or PIF) through a complex system of cellular photoreceptors (particularly phytohromes and cryptochromes). In consequence, the genes encoding enzymes involved in chlorophyll biosynthesis can be globally up- or downregulated. Additionally, plant hormones ensure the integration of environmental signals at the level of the whole organism. Auxins and cytokinins play a central role in that regulation. An excellent example of the cooperation between light- and hormone-dependent signaling pathways can be observed during de-etiolation (a switch to photoautotrophy) of angiosperm seedlings. In darkness, chlorophyll biosynthesis is blocked, but even a flash of light, through the activation of molecular switchers such as COP1 protein, restores the capacity for production of the pigment in emerging plants. This article briefly summarizes the current state of knowledge about the molecular mechanisms involved in the regulation of chlorophyll biosynthesis in angiosperms.

Keywords: chlorophyll biosynthesis, light, phytohormones, photoreceptors, gene expression, HY5, COP1

WSTĘP

Chociaż chlorofil jest najbardziej powszechnym barwnikiem na Ziemi, a szlak jego biosyntezy w roślinach został, w wyniku wieloletnich badań, stosunkowo dobrze poznany [90], to procesy regulujące powstawanie i akumulację chlorofilu na poziomie komórkowym wciąż skrywają wiele tajemnic. Chlorofil – barwnik niezbędny w procesie fotosyntezy – jest energetycznie kosztowny do wytworzenia (co najmniej 5 cząsteczek ATP oraz 3 NADPH na 1 cząsteczkę barwnika) [90]. jednocześnie, ta niezwykła chemiczna „antena" może być także niebezpieczna, ponieważ cząsteczki chlorofilu akumulowane w nadmiarze i/lub znajdujące się w niewłaściwym otoczeniu białkowym mogą przekazywać energię wzbudzeń molekułom ze swojego bezpośredniego otoczenia. Prowadzi to w konsekwencji do wytworzenia reaktywnych form tlenu (RFT), zdolnych uszkadzać struktury komórkowe oraz zaburzać procesy metaboliczne. W skrajnych przypadkach może to skutkować nawet śmiercią organizmu [18, 90]. Zatem dla zapewnienia właściwej równowagi, w roślinie musi istnieć szereg mechanizmów dostosowujących aktywność szlaku biosyntezy chlorofilu do aktualnych potrzeb organizmu. Dostępne dane wskazują, że biosynteza chlorofilu może być kontrolowana zarówno przez czynniki środowiskowe oraz czynniki wewnętrzne organizmu roślinnego, za pośrednictwem szeregu białek regulatorowych [35]. Niniejszy artykuł, bazując głównie na wynikach badań przeprowadzonych na *Arabidopsis thaliana* – modelowej roślinie okrytonasiennej, krótko podsumowuje dotychczasowy stan wiedzy na temat roli światła i fitohormonów w regulacji procesu biosyntezy chlorofilu.

SKOMPLIKOWANE NARODZINY – BIOSYNTEZA CHLOROFILU

Substratem do syntezy chlorofilu jest glutamylo-tRNA, powstający z kwasu glutaminowego w reakcji katalizowanej przez reduktazę glutamylo-tRNA. W *Arabidopsis* występuje kilka izoform tego enzymu, z których najważniejszym jest białko kodowane przez gen *HEMA1*. Późniejsza rearanżacja grup funkcyjnych przy udziale aminotransferazy glutamylo-1-semialdehydowej prowadzi do powstania kwasu 5-aminolewulinowego (ALA). Dwie cząsteczki ALA ulegają następnie kondensacji do porfobilinogenu, zawierającego heterocykliczny pierścień pirolowy. Połączenie czterech takich cząsteczek prowadzi do otrzymania struktury tetrapirolowej, charakterystycznej dla wszystkich związków porfirynowych. Poszczególne pierścienie pirolowe oznaczane są literami od A do D, zgodnie z numeracją atomów węgla. Przełomowym etapem biosyntezy jest jednak dopiero powstanie protoporfiryny IX, co pozwala na wprowadzenie jonu metalu do pierścienia tetrapirolowego. Jeżeli będzie to Fe^{2+} powstanie hem, wprowadzany przy udziale ferrochelatazy. Natomiast działanie Mg-chelatazy doprowadzi do wprowadzenia jonu magnezu (II), co umożliwia ostatecznie powstanie protochlorofilidu, który może być następnie przekształcony w chlorofilid a. W przypadku sinic, roślin niższych i nagonasiennych za powstanie chlorofilidu odpowiedzialna jest oksydoreduktaza NADPH: protochlorofilid, działająca niezależnie od światła [90]. Natomiast u okrytonasiennych występuje znacznie różniąca się budową, światło-zależna oksydoreduktaza, która wykorzystuje energię świetlną pochłoniętą przez swój własny substrat – protochlorofilid do przeprowadzenia redukcji wiązania pomiędzy 17 i 18 atomem węgla w pierścieniu D protochlorofilidu i tym samym powstania chlorofilidu [90, 57]. W *Arabidopsis thaliana* zidentyfikowano trzy izoformy tego enzymu (LPOR A–C) [4, 53, 57, 72, 77]. Ostatecznie chlorofilid a ulega estryfikacji fitolem, czego rezultatem jest powstanie niebieskozielonego chlorofilu a [53, 76]. Część powstałej puli barwnika może stać się substratem w reakcji katalizowanej przez oksygenazę chlorofilidu a, która utlenia grupę metylową w pierścieniu B chlorofilidu *a*. Powstała grupa formylowa znacząco zmienia właściwości absorpcyjne powstałego produktu – chlorofilidu *b*. Dlatego powstały po etryfikacji chlorofil *b* wykazuje barwę żółtozieloną [90].

ROLA ŚWIATŁA W REGULACJI AKUMULACJI CHLOROFILU

Stosunkowo wcześnie zaobserwowano, iż wysokie natężenie światła redukuje zawartość chlorofilu w roślinach, natomiast niskie natężenie podwyższa zawartość tego barwnika. Ważną rolę w tej regulacji odgrywa także skład spektralny, utożsamiany z barwą światła. Światło niebieskie przyczynia się do obniżenia względnej zawartości

chlorofilu w komórkach, czerwone wykazuje efekt przeciwny [23]. Percepcja światła może zachodzić w obrębie powierzchni całej rośliny i jest możliwa dzięki obecności fotoreceptorów. Są to wyspecjalizowane białka, zawierające chromofor – grupę barwnikową odpowiedzialną za pochłanianie promieniowania o określonej długości fali. Pośród zidentyfikowanych dotychczas fotoreceptorów wyróżnia się kryptochromy (wrażliwe na niebieskie i UVA), fitochromy (wrażliwe na światło długofalowe: czerwone i tzw. daleką czerwień) oraz fototropiny (percepcja światła niebieskiego i UVA). Dodatkowo w roślinach występuje odkryty niedawno receptor promieniowania UVB – UVR8 (UVB resistance 8) [15, 22, 33, 87]. Spośród 5 fitochromów zidentyfikowanych w *Arabidopsis thaliana* (PHYA – PHYE) [83], stosunkowo najlepiej zbadane są PHYA i PHYB. PHYB ulega aktywacji w świetle czerwonym, jednak naświetlanie daleką czerwienią prowadzi do jego inaktywacji. Toteż możliwe jest odwrócenie początkowej stymulacji, jeśli puls dalekiej czerwieni jest dostarczony szybciej niż czas potrzebny do wywołania pełnej odpowiedzi zależnej od PHYB. W warunkach fizjologicznych światło czerwone i daleka czerwień oddziaływają na pulę PHYB równocześnie, a o nasileniu danego typu odpowiedzi organizmu roślinnego decyduje wzajemny stosunek obu składowych światła. Natomiast odpowiedź zależna od PHYA jest wywoływana jedynie przez daleką czerwień, a fotoreceptor ulega degradacji stosunkowo szybko po aktywacji. Znamiennym efektem płynnej regulacji procesów przy udziale fitochromów może być m.in. wysokie zróżnicowanie stosunku chlorofilu *a/b* w obrębie jednej rośliny [23]. Znaczenie poszczególnych receptorów uwidacznia się między innymi podczas obserwacji zielenienia korzeni pod wpływem światła. Światło niebieskie wywołuje w tym przypadku wielokrotnie silniejszą akumulację chlorofilu, niż czerwone. Efekt ten jest zależny od kryptochromów, w szczególności CRY1. Jednakże brak najważniejszych receptorów światła długofalowego – PHYA i PHYB uniemożliwia zielenienie korzeni pod wpływem światła niebieskiego, co świadczy o pewnym stopniu współdziałania ścieżek sygnałowych regulowanych zarówno światłem niebieskim jak i czerwonym [96]. Skład spektralny światła wpływa także na zawartość poszczególnych typów chlorofili występujących w roślinach, tj. chlorofilu *a* i chlorofilu *b*. W tym przypadku działanie fotoreceptorów jest jednak wzajemnie przeciwstawne. Niebieskie światło powoduje podwyższenie stosunku chlorofilu *a/b*, natomiast czerwone przyczynia się do obniżenia jego wartości na skutek zwiększonej produkcji chlorofilu *b* [23].

MROCZNE OBLICZE ROŚLIN – ROLA ŚWIATŁA W DEETIOLACJI

Jednym z najbardziej niezwykłych zjawisk w świecie roślin jest deetiolacja – proces fizjologicznych i metabolicznych przemian prowadzących od heterotroficzności do samożywności, zachodząca wyłącznie u okrytonasiennych [27]. Zwykle obserwu-

je się to zjawisko w młodych siewkach, rozwijających się w ciemności z zagrzebanych w ziemi nasion. Wykazują one szereg charakterystycznych adaptacji umożliwiających łatwiejszą penetrację gleby – m.in. szybki wzrost hypokotyla (embrionalnej łodygi) czy skulone, tzw. „zamknięte" liścienie, oraz wygięcie szczytowego fragmentu łodygi w „haczyk", chroniący liścienie przed uszkodzeniem. Łączne występowanie tych cech określa się jako stan etiolacji. Przebicie się na powierzchnię ziemi to najbardziej krytyczny moment w życiu rośliny, gdyż wymaga zapewnienia warunków dla sprawnego rozpoczęcia fotosyntezy. W roślinach okrytonasiennych synteza chlorofilu w ciemności jest zatrzymana na etapie protochlorofilidu. Ta przeszkoda jest wynikiem specyficznej, zależnej od światła aktywności LPOR. Zgromadzony w ciemności protochlorofilid może być jednak potencjalnie niebezpieczny, ze względu na możliwość powstawania RFT podczas ekspozycji na światło. Pewnym zabezpieczeniem jest związanie jak największej puli Pchlidu z LPOR, co zapewnia szybką konwersję barwnika i ogranicza ryzyko powstania RFT. Dodatkowo rośliny okrytonasienne wytworzyły szereg mechanizmów chroniących je przed nadmierną akumulacją Pchlidu. Wzrost stężenia Pchlidu aktywuje białko FLU (ang. *FLUorescent in blue light*) w *Arabidopsis thaliana* [56], (TIGRINA w *Hordeum vulgare* [25, 48]), które zwrotnie hamuje aktywność reduktazy glutamylo-tRNA, tym samym zatrzymując pierwszy etap biosyntezy chlorofilu [67]. Siewki mutanta pozbawionego tego białka akumulują w ciemności nawet do szesnastu razy więcej protochlorofilidu w porównaniu z siewkami typu dzikiego, a po oświetleniu białym światłem szybko blakną i zamierają [56]. Niezależnie od białka FLU aktywność reduktazy glutamylo-tRNA może być hamowana również przez podwyższone stężenie hemu w komórce [64]. Wyższą zawartość Pchlidu obserwuje się także w rozwijających się w ciemności siewkach mutanta *cop1* (ang. *COnstitutive Photomorphogenesis 1*), charakteryzującego się brakiem zdolności do etiolacji przy braku światła. Co więcej, produkcja białek LPORA i LPORB jest w ciemności silnie zahamowana w mutantach *cop1* [46]. COP1 jest ligazą E3, zaangażowaną w ubikwitynylację białek przeznaczonych do degradacji przy udziale proteasomu 26S. W ciemności homodimery COP1 gromadzą się na terenie jądra komórkowego (prawdopodobnie wchodząc w skład plamek jądrowych) [110], gdzie ulegają aktywacji przy udziale białek SPA1-SPA4 (ang. *Supressor of PHYA*) [73]. W skład powstałego kompleksu wchodzą także dimery fotoreceptorów CRY [73, 98]. COP1 selektywnie rozpoznaje i znakuje czynniki transkrypcyjne zaangażowane w kontrolowanie rozwoju w obecności światła, a także szereg innych regulatorów, w tym np. PHYA, przyczyniając się do redukcji jego zawartości w komórkach [78].

Światło niebieskie, za pośrednictwem kryptochromów, hamuje aktywność COP1, indukując oddysocjowanie związanych z COP1 białek SPA, co skutkuje utratą aktywności ligazy przez COP1. Dodatkowo, światło czerwone stymuluje zależny od fitochromów eksport COP1 z jądra do cytoplazmy [8, 60], jednak ten proces trwa już znacznie dłużej, nawet do kilkunastu godzin [5]. Natomiast aktywacja PHYA dezaka tywuje COP1 przy udziale białka FIN219 [29].

Najważniejszym poznanym dotychczas substratem ligazy COP1 jest czynnik transkrypcyjny HY5 (ang. *elongated HYpocotyl 5*) [27], uruchamia on bowiem ekspresję genów kolejnych czynników transkrypcyjnych, w tym także LZF1 (ang. *Light-regulated Zinc Finger 1*). Zarówno LZF1 jak i HY5 wydają się uczestniczyć w regulacji syntezy chlorofilu, ponieważ brak tych białek prowadzi do znaczącego spadku zawartości chlorofilu w kilkutygodniowych mutantach. Natomiast nadekspresja *LZF1* znacząco podwyższa całkowitą zawartość chlorofilu w roślinie. Co ciekawe, podwyższona ekspresja genu *LZF1* w mutancie *hy5* nie jest wystarczająca do całkowitego przywrócenia zawartości chlorofilu do normalnego poziomu w dojrzałych roślinach, sugerując nadrzędną rolę HY5 w biosyntezie chlorofilu [11]. Wydaje się to zrozumiałe, biorąc pod uwagę późniejsze odkrycia, świadczące, iż HY5 na różnych etapach rozwoju może regulować ekspresję około 10 genów związanych z biosyntezą chlorofilu, w tym między innymi *CHLH*, czy *PORC* [47]. Dodatkowo HY5 bezpośrednio aktywuje ekspresję genów białek wiążących chlorofil, co umożliwia składanie kompleksów aparatu fotosyntetycznego [47, 62].

Podczas deetiolacji następuje także zależna od fitochromów aktywacja białka NPDK2, które z kolei przyczynia się do uruchomienia transkrypcji genu *HEMA1* [54, 108]. Biosyntezę chlorofilu cechuje specyficzny sposób podwójnej regulacji. Nie wystarczy bowiem jedynie aktywować czynniki konieczne do jej rozpoczęcia. Konieczne jest także wyłączenie wszelkich regulatorów, których zadaniem jest powstrzymywanie produkcji chlorofilu w ciemności. Światło czerwone i daleka czerwień inicjują niezależną od COP1, proteasomalną degradację czynników transkrypcyjnych typu PIF1 i PIF3, których działanie polega m.in. na obniżaniu ekspresji genu *HEMA1* [85], blokujących zatem pierwszy i najważniejszy etap biosyntezy. Umożliwia to szybkie przełączenie produkcji reduktazy glutamylo-tRNA ze stanu inaktywacji w ciemności do pełnej aktywności w obecności światła, a zatem wznowienie biosyntezy chlorofilu. Jednak sama aktywacja genów nie wystarczy do uruchomienia produkcji chlorofilu. Konieczna jest wydajna produkcja enzymów, jednakże w ciemności translacja białek jest silnie zahamowana. Światło czerwone znacząco podnosi intensywność biosyntezy białek. Jednak mechanizmy regulacji tych procesów są słabo zbadane. Dotychczas wykazano rolę zaledwie jednego czynnika – białka BPG2, wiążącego się z rRNA w plastydach. Ekspresja genu *BPG2* jest zależna od fitochromów i ulega podwyższeniu w obecności światła czerwonego, a efekt ten może być odwrócony przez daleką czerwień. Co więcej, w mutancie *bpg2-2* zawartość chlorofilu jest silnie obniżona, czego rezultatem są charakterystyczne żółtozielone liście [39].

Zachodząca w procesie deetiolacji aktywacja PHYA hamuje aktywność białek FHY1 i FHY3 (ang. *Far-red elongated HYpocotyl*) [6]. W obecności światła FHY1 ulega proteasomalnej degradacji. Do akumulacji białek FHY1 i FHY3 w ciemności jest jednak konieczna obecność COP1 [80]. Co więcej, promotor genu *COP1* zawiera kasetę FBS, stanowiącą miejsce wiązania białek FHY1/FHY3. Dotychczas wykazano, że do zależnego od FHY1/FHY3 wzrostu ekspresji *COP1* dochodzi

w etiolowanych siewkach poddanych działaniu promieniowania UVB [30]. Ważną rolą czynników FHY1/FHY3 jest także ochrona zakumulowanego w ciemności PHYA przed zależną od COP1 degradacją w obecności dalekiej czerwieni. COP1 wykazuje powinowactwo do nieufosforylowanej puli PHYA, z którą preferencyjnie wiążą się czynniki FHY1/FHY3. Powstały kompleks charakteryzuje się znacznie wyższą stabilnością w obecności COP1 [74]. Ponadto FHY3 oraz homologiczny czynnik FAR1 (ang. *FAR-red impaired response*) aktywują ekspresję genu *HEMB1*, kodującego dehydratazę 5-ALA, a mutanty pozbawione tych czynników wykazują obniżoną akumulację protochlorofilidu w etiolowanych siewkach i znacznie lepiej niż dziki typ przeżywają zielenienie. Aktywność FHY3 jest bezpośrednio hamowana przez wiązanie z PIF3 [91]. Wyższą przeżywalność wykazują także zieleniejące siewki mutanta *fhy1* [13]. Ponadto mutanty *fhy1* i *fhy3* wykazują w porównaniu z dzikim typem bardzo silne obniżaną ekspresję genu *HEMA1* podczas zielenienia w świetle czerwonym. Co interesujące, podobny efekt obserwuje się także w siewkach mutanta *phyA* naświetlanych światłem niebieskim. Sugeruje to powiązanie szlaków regulowanych przez PHYA i kryptochromy [54]. Białka FHY1 i FHY3 uruchamiają także ekspresję genu *CHLH*, kodującego jedną z podjednostek Mg-chelatazy oraz produkcję białka GUN4 [86]. GUN4 stymuluje aktywność Mg-chelatazy oraz promuje powstawanie kompleksów enzym-substrat, wiążąc protoporfirynę IX, i zwiększając tym samym wydajność produkcji Mg-protoporfiryny IX. GUN4 wiąże także Mg-protoporfirynę IX. Obserwowano korelację pomiędzy zawartością chlorofilu i stężeniem GUN4, ale brak białka GUN4 nie zatrzymuje biosyntezy chlorofilu całkowicie. Mutanty *gun4* są jednak wyraźnie mniejsze, zwykle o bladozielonych lub żółtych liściach [44]. Akumulacja GUN4 pozytywnie koreluje także z poziomem produkcji 5-ALA [21, 44, 63], a mutant *gun4-1* wykazuje obniżoną akumulację ALA [17]. Taka regulacja wydaje się gwarantować produkcję inicjalnej puli protochlorofilidu przy braku światła, kosztem produkcji hemu. Gromadzenie się białek PIF1 i PIF3 w ciemności zapobiega jednak nadmiernej produkcji Mg-chelatazy, poprzez hamowanie ekspresji *GUN4* i *CHLH* [83, 85]. W efekcie dochodzi także do nagromadzenia hemu oraz, po pewnym czasie, zahamowania produkcji 5-ALA [26].

Mnogość molekularnych ścieżek regulacyjnych zapewnia błyskawiczne rozpoczęcie biosyntezy chlorofilu już w pierwszych chwilach po oświetleniu. Mimo to wyprodukowanie tego barwnika *de novo* zajmuje nawet do czterech godzin [32]. To charakterystyczne opóźnienie określa się mianem fazy *lag*. Długość jej trwania jest różna w zależności od gatunku rośliny (od około 1,5 do 4 godzin) [2, 32]. Ponadto poddanie etiolowanych siewek naświetlaniu światłem czerwonym lub daleką czerwienią tuż przed oświetleniem światłem białym przyczynia się do skrócenia fazy *lag*, jak również do zwiększenia całkowitej zawartości chlorofilu w de-etiolowanych roślinach [40, 59]. Efekt działania światła czerwonego może być przy tym odwrócony, jeśli odpowiednio szybko zastosuje się naświetlanie daleką czerwienią [19]. Wynika to bezpośrednio ze specyficznego mechanizmu

działania PHYB (zobacz powyżej). Wstępne naświetlanie światłem czerwonym i daleką czerwienią dodatkowo podwyższa średnią zawartość chlorofilu zakumulowanego podczas dalszego rozwoju rośliny [51].

ROLA FITOHORMONÓW W REGULACJI BIOSYNTEZY CHLOROFILU

Percepcja światła na poziomie komórkowym zapewnia szybką i bardzo dokładną adaptację do aktualnych warunków środowiska. Szczególnie wyraźne różnice w dostosowaniu poszczególnych tkanek i organów obserwuje się w przypadku reakcji zależnych od fitochromów, których oddziaływanie na procesy fizjologiczne jest silnie uwarunkowane składem spektralnym i dawką promieniowania. Jednak integrację sygnałów środowiskowych na poziomie całego organizmu zapewnia roślinie rozbudowany system sygnalizacji hormonalnej. Warto podkreślić, że szlaki sygnalizacji mediowane przez poszczególne fitohormony krzyżują się wzajemnie i uzupełniają, tworząc skomplikowaną sieć powiązań. Jednak im więcej wzajemnych połączeń, tym kontrola procesów fizjologicznych jest bardziej skorelowana ze zmianami w środowisku i mniej narażona na przypadkowe, śmiertelne w skutkach dla rośliny błędy, powstałe np. w wyniku mutacji genu pojedynczego czynnika regulatorowego.

Stosunkowo najwcześniej odkrytą grupą fitohormonów były auksyny. Negatywnie wpływają one na akumulację chlorofilu w roślinach. Są również zaangażowane w indukcję procesów starzenia, których objawem jest m.in. utrata chlorofilu [19]. Auksyny hamują także zielenienie korzeni w *Arabidopsis* [41]. Jednak mechanizm molekularny, stojący za ich działaniem w tych procesach wciąż nie został do końca poznany. Stwierdzono, że w regulację biosyntezy chlorofilu za pośrednictwem auksyn zaangażowane są białka GNL (ang. *GNC-like*) i GNC (*GATA, NITRATE-INDUCIBLE, CARBON-METABOLISM INVOLVED*). W obecności auksyn ekspresja genów obu tych czynników transkrypcyjnych jest hamowana przez białko ARF7 (ang. *Auxin Response Factor 7*). Natomiast spadek stężenia endogennych auksyn prowadzi do aktywacji białka SLR (ang. *SoLitary Root*), które hamuje aktywność ARF7 [69]. Auksyny wpływają także na poziom ekspresji genu *FIN219*, ale już nie na aktywność samego białka. Mimo to uważa się, iż regulacja z udziałem białka FIN219 integruje odpowiedź zależną od auksyn i PHYA [58].

Przeciwstawnie do auksyn działają cytokininy. W obrębie chloroplastów roślin okrytonasiennych zidentyfikowano kilka rodzajów tych fitohormonów [7]. Rezultatem ich działania jest m.in. także stymulacja akumulacji chlorofilu [21, 37]. Logiczną konsekwencją ich działania jest także opóźnianie degradacji chlorofilu w wyniku hamowania procesów starzenia przez cytokininy [84]. Wykazano, że obecność cytokinin w podłożu podwyższa zawartość reduktazy glutamylo-tRNA oraz aminotransferazy glutamylo-1-semialdehydowej w rozwijających się w ciemności siew-

kach [109]. Cytokininy stymulują także wzrost ekspresji genu reduktazy Glu-tRNA [9, 52]. Mimo to nie obserwowano wpływu cytokinin na produkcję 5-ALA w ciemności [109]. Sytuacja zmienia się jednak dramatycznie w obecności światła, gdy wyłączone zostają wszystkie regulatory blokujące funkcjonowanie reduktazy glutamylo-tRNA. Dochodzi wtedy do szybkiego i wyraźnego podwyższenia zawartości 5-ALA, znacznie wyższego niż w przypadku etiolowanych siewek nie poddanych traktowaniu fitohormonami. Ponadto egzogenne cytokininy podwyższają aktywność Mg-chelatazy i Mg-metylotransferazy w ciągu pierwszych 5 godzin od rozpoczęcia naświetlania [109]. Cytokininy wywołują także bardzo silny wzrost ekspresji *LPOR* [42, 43]. W siewkach *Raphanus sativus* rozwijających się na podłożu zwierającym egzogenne cytokininy obserwowano podwyższoną zawartość karotenoidów oraz kompleksów LPOR-protochlorofilid [10]. Oznacza to, że docelowym miejscem działania tych fitohormonów są najbardziej krytyczne etapy biosyntezy, co zapewnia wydajną i szybką produkcję nowych cząsteczek barwnika. Dodatkowo przy podwyższonym stężeniu cytokinin dochodzi także do zwiększonej produkcji Glu-tRNA, dzięki czemu nie brakuje substratu potrzebnego zarówno do intensywnej syntezy białek podczas deetiolacji, jak również syntezy chlorofilu. Co więcej, dodatek egzogennych cytokinin indukuje konstytutywną fotomorfogenezę w etiolowanych siewkach [14]. Co interesujące, w konstytutywnie fotomorfogenetycznym mutancie *det1 Arabidopsis,* stężenie cytokinin nie odbiega znacząco od wartości obserwowanych w roślinach typu dzikiego, mimo zaburzenia funkcjonowania systemu ubikwitynylacji zależnego od COP1 [14]. Możliwym wyjaśnieniem wydaje się istnienie mechanizmu pozwalającego na wyłączenie białka COP1 w obecności cytokinin, co bez wątpienia wymaga kolejnych badań.

Ważną rolę w zielenieniu etiolowanych siewek odgrywa także inny hormon roślinny – etylen. W obecności tego gazu dochodzi do akumulacji czynników transkrypcyjnych EIN3 (ang. *Ethylene INsensitive 3*) i EIL1 (ang. *EIN3-Like1*) na obszarze jądra. Dodatkowo zawartość tych białek pozytywnie koreluje ze stężeniem COP1 [114]. Co więcej, etylen stymuluje import COP1 do jądra przy braku światła [111]. Natomiast przy braku etylenu EIN3 i EIL1 są ubikwitynylowane przy udziale białek EBF1 i EBF2 (ang. *EIN3-Binding F-box*) i podlegają proteasomalnej degradacji. Stabilizację czynników EIN3/EIL1 na terenie jądra zapewnia jedynie obecność białka EIN2, które z kolei stymuluje degradację czynników EBF1 i EBF2 [3]. Białka EIN3/EIL1 mogą aktywować ekspresję genów *LPORA* i *LPORB* [114]. Aktywacja EIN3/EIL1 prowadzi także do wzrostu ekspresji genu *PIF3*. Trzeba jednak zauważyć, że pule genów aktywowanych przez EIN3 i EIL1 różnią się od siebie znacząco. Co więcej, hamowanie syntezy protochlorofilidu w ciemności przez oba te czynniki jest całkowicie niezależne od ścieżek zależnych od PIF1 i częściowo niezależne od szlaków sygnałowych związanych z PIF3 [113]. Etylen działa zatem hamująco na wczesne etapy syntezy chlorofilu, niezależnie od innych czynników wzmacniając wpływ białek PIF. Pośredniczy również w związaniu puli protochlorofilidu przez LPOR, zabezpieczając komórkę przed uszkodzeniem przy nagłym

oświetleniu [56]. Nasilenie produkcji etylenu zachodzi jednak w bardzo specyficznych warunkach, które mogą tłumaczyć tak skomplikowany wpływ tego hormonu na syntezę chlorofilu. Zwykle etylen jest odpowiedzialny głównie za wyginanie się hypokotyla w haczyk podczas przebijania się rosnącej siewki przez glebę. Jednak po napotkaniu twardej przeszkody (czyli najczęściej kamienia) następuje tzw. reakcja potrójna, zależna od podwyższonego stężenia etylenu – hypokotyl skręca się, cofa i wygina usiłując ominąć kamień. Oznacza to jednak opóźnienie w penetracji gleby, co wymaga bardziej restrykcyjnego zarządzania kurczącymi się zasobami składników odżywczych. Przypuszczalnie zadaniem etylenu w tych warunkach jest minimalizowanie poziomu produkcji prekursorów chlorofilu i strat energii oraz surowców z tym związanych. Z drugiej strony działanie etylenu zapobiega także blaknięciu barwników po oświetleniu, dzięki związaniu ich z LPOR, co chroni potencjalnie osłabioną roślinę przed stresem oksydacyjnym. Niczym mityczny bóg Janus, etylen ma zatem dwa oblicza – hamuje syntezę chlorofilu w ciemności i stymuluje jego produkcję w obecności światła. Taki mechanizm działania etylenu uwidacznia się także w innych reakcjach związanych z deetiolacją, w tym także regulacją długości hypokotyla. Wykazano że, działanie etylenu jest bardzo silne: nadekspresja genów *EIN3/EIL1* w mutancie *cop1* prowadzi do obniżenia zawartości zakumulowanego w etiolowanych siewkach protochlorofilidu [114]. Z kolei etiolowane siewki mutanta *flu* również wykazują spadek produkcji protochlorofilidu, jeśli kiełkujące nasiona zostaną poddane działaniu podwyższonego stężenia etylenu [113].

Ważną klasą fitohormonów zaangażowaną w regulację biosyntezy chlorofilu są gibereliny, których mechanizm działania opiera się m.in. na stymulacji proteasomalnej degradacji specyficznych białek DELLA. Represory DELLA wchodzą w interakcje z czynnikami transkrypcyjnymi, uniemożliwiając ich działanie. W etiolowanych siewkach regulacji z udziałem DELLA podlegają czynniki PIF1 i PIF3 [12, 20]. W konsekwencji DELLA mogą przyczyniać się do aktywacji biosyntezy chlorofilu zablokowanej przez PIF, natomiast gibereliny wpływają hamująco na ten proces. Etiolowane siewki mutantów *Arabidopsis* pozbawionych zdolności do syntezy giberelin (*ga1-3*) wykazują również podwyższoną zawartość protochlorofilidu [12]. Gibereliny wywołują także spadek akumulacji mRNA genów *GNC* i *GNL*, co koreluje z obniżeniem ekspresji genów *LPOR* w etiolowanych siewkach i tym samym negatywnie wpływa na produkcję chlorofilu w obecności światła [68]. Nadekspresja *GNL* i *GNC* prowadzi natomiast do podwyższenia zawartości chlorofilu [69]. Także mutant *slender Hordeum vulgare* wykazuje cechy konstytutywnej odpowiedzi na gibereliny (pomimo obniżonej produkcji endogennych giberelin), a także obniżenie ekspresji izoform *LPOR* w etiolowanych siewkach [61]. Może to wynikać z oddziaływania giberelin na DELLA, ponieważ czynniki te prawdopodobnie stymulują ekspresję *LPOR* w *Arabidopsis*. Co więcej, w niektórych mutantach *pif* (*pif3-1* i *pif101/pif3-1*) obserwowano obniżoną produkcję transkryptów *LPORA* i *LPORB*, ale podwyższoną ekspresję *PORC* [12]. Sugeruje to pewną rolę czynników PIF w regulacji ekspresji *LPOR*. Na akumulację białek DELLA pozytywnie wpływa również tlenek azotu. Mu-

tanty pozbawione zdolności do produkcji tego gazowego fitohormonu charakteryzują się niższą zawartością chlorofilu. Jednocześnie sygnalizacja zależna od PHYB jest w tych mutantach zaburzona, a ekspresja *PIF3* po naświetlaniu światłem czerwonym wyższa niż w dzikim typie [50]. Dodatek egzogennych giberelin przyczynia się do spadku zawartości chlorofilu w liściach roślin rozwijających się w obecności światła [102]. Natomiast obniżenie stężenia aktywnych giberelin prowadzi do podwyższenia stężenia chlorofilu w roślinie [36, 49, 66].

Intrygujący efekt jest natomiast obserwowany po aplikacji giberelin roślinom rosnącym w glebie o wysokim zasoleniu. Obecność NaCl utrudnia wchłanianie wody przez korzenie i jak każdy rodzaj stresu prowadzi do nasilenia degradacji chlorofilu na skutek zwiększonej aktywności chlorofilazy. Enzym ten odcina resztę fitolu, inicjując rozkład barwnika [81]. Dodatkowo stres solny prowadzi także do podwyższenia zawartości etylenu, co również negatywnie wpływa na syntezę chlorofilu [38]. Podobny, choć słabszy efekt wykazuje dodatek innej soli – $CaCl_2$ [34]. W tych warunkach podanie egzogennych giberelin przyczynia się do zahamowania negatywnego wpływu stresu na wzrost roślin i prowadzi również do podwyższenia zawartości chlorofilu [79]. Wydaje się zatem, że etylen i gibereliny mają antagonistyczny wpływ na biosyntezę chlorofilu. Tym bardziej, że etylen może także spowalniać degradację białek DELLA [1]. Jednocześnie, spowolnienie degradacji DELLA obserwowano przy braku stymulacji auksynami [24]. Ten fakt pozwala wnioskować o synergistycznym wpływie giberelin i auksyn na biosyntezę chlorofilu [69, 88]. Spowolniona degradacja DELLA występuje także przy jednoczesnej aplikacji giberelin i innego fitohormonu – kwasu jasmonowego. Ponadto pod wpływem kwasu jasmonowego dochodzi do aktywacji białek JAZ, które uniemożliwiają białkom DELLA interakcję z PIF (w tym z PIF3) [107]. Aplikacja kwasu jasmonowego (lub jasmonianu metylu) podczas kiełkowania nasion prowadzi do podwyższenia zawartości chlorofilu w roślinach, m.in. poprzez związaną z podwyższonym stężeniem cytokinin stymulację syntezy 5-ALA [64]. Podobny efekt obserwuje się także podczas hormonalnej stymulacji bulw tulipana, zwłaszcza przy jednoczesnym zaaplikowaniu etylenu [94]. Jest to o tyle interesujący wynik, iż aplikacja kwasu jasmonowego w pełni rozwiniętym roślinom podnosi poziom produkcji etylenu i indukuje procesy starzenia, czego skutkiem jest m.in. obniżenie zawartości chlorofilu [75]. Jasmonian metylu powoduje również wzrost zawartości białek ELIP (ang. *Early Light-Induced Proteins*) [104]. Białka ELIP1 i ELIP2 mają zdolność wiązania chlorofilu i są akumulowane podczas deetiolacji. Ich brak prowadzi natomiast do zwiększonej produkcji RFT wraz ze wzrostem natężenia światła. Dlatego wydaje się, że stabilizują one pulę chlorofilu, zabezpieczając ten barwnik przed zależną od światła degradacją [31]. Brak tych białek ma jednak niewielki wpływ na akumulację chlorofilu w stosunkowo niskich natężeniach światła [71]. Jednakże hiperakumulacja białka ELIP2 prowadzi do obniżenia zawartości chlorofilu, jak również prekursorów tego barwnika w dojrzałych roślinach. W etiolowanych siewkach powoduje dodatkowo opóźnienie akumulacji chlorofilu po wystawieniu na działanie światła. Wzrost stężenia ELIP2 koreluje bowiem bezpośrednio ze spadkiem

produkcji podjednostek CHLH i CHLI Mg-chelatazy, jak i obniżeniem zawartości reduktazy glutamylo-tRNA. Jednocześnie nie obserwuje się wpływu ELIP2 na zawartość ferrochelatazy i poziom produkcji hemu [93]. Mechanizm regulacji z udziałem białek ELIP jest obecnie przedmiotem intensywnych badań. Wykazano dotychczas pewną rolę tych czynników w mediowanym przez PHYB/PIL5 (ang. *PIF-like Factor 5*) kiełkowaniu nasion [70]. Stanowi to potwierdzenie współdziałania regulacji fitoó hormonalnej i szlaków sygnalizacji komórkowej zależnych od światła.

Ostatni uwzględniony w tym zestawieniu fitohormon – kwas abscysynowy, również może podwyższać tempo degradacji chlorofilu, choć intensywność tego procesu zależy od stanu rośliny i obecności dodatkowych czynników stresowych [105, 106]. Ponadto wywiera on hamujący wpływ na ekspresję genów *LPOR*, działając przeciwstawnie do cytokinin. Tym samym kwas abscysynowy przyczynia się do opóźnienia zielenienia etiolowanych siewek [43]. Ponadto kwas abscysynowy znacząco obniża ekspresję wielu genów chloroplastowych zaangażowanych w składanie aparatu fotosyntetycznego [106]. Wykazano natomiast, że zakażenie wirusami może przyczyniać się do podwyższenia zawartości zarówno chlorofilu, jak i kwasu abscysynowgo w roślinach [103].

Przytoczone obserwacje pokazują, że fitohormony mogą pobudzać produkcję chlorofilu (jak cytokininy), hamować ją (jak auksyny i gibereliny) lub mieć działanie modulujące lub zależne od innych czynników (jak etylen, kwas jasmonowy i abscysynowy). Integralnym elementem badań jest jednak nie tylko poznanie roli poszczególnych fitohormonów w regulacji szlaku biosyntezy chlorofilu, lecz także udokumentowanie molekularnego mechanizmu, który odpowiada za działanie tych związków. Punktem, w którym przecina się większość molekularnych ścieżek, związanych z sygnalizacją świetlną i fitohormonalną jest najprawdopodobniej czynnik transkrypcyjny HY5 [82]. Zarówno aktywacja CRY1 jak i podwyższone stężenie cytokinin prowadzą do wzrostu zawartości białka HY5. Białko HY5 wydaje się być zatem czynnikiem integrującym sygnalizację zależną od CRY1 i cytokinin [97]. Uważa się, że wynika to z obniżenia intensywności degradacji HY5 przez COP1. Jest to możliwe, gdyż powinowactwo HY5 do COP1 może zmieniać się w wyniku fosforylacji. Białko HY5 po ufosforylowaniu, jest znacznie rzadziej rozpoznawane i znakowane przez COP1, tym samym ma wyższą stabilność w ciemności. Dzięki temu w etioplastach może istnieć inicjalna pula HY5, co umożliwia szybsze rozpoczęcie deetiolacji po oświetleniu [28]. HY5 zaangażowane jest także w regulację sygnalizacji auksyno-zależk nej. HY5 wiąże się z promotorem genu *AUXIN RESISTANT 2* (*AUX2*) / *INDOLE ACETIC ACID 7* (*IAA7*), jak również pozytywnie wpływa na ekspresję genów *SOLITARY ROOT* (*SLR*)/*IAA14*. Białkowe produkty obu tych genów są negatywnymi regulatorami sygnalizacji auksynowej [16]. Wykazano także, iż homologi białek COP1 i HY5 w *Pisum sativum* (odpowiednio LIP1 i LONG1) biorą także udział w regulacji odpowiedzi zależnej od giberelin w siewkach, w tym w kontrolę syntezy chlorofilu [101]. Wpływ HY5 na syntezę chlorofilu częściowo nakłada się z funkcją czynnika transkrypcyjnego GLK2 (ang. *Golden Like 2*). Ekspresja genu *GLK2* w korzeniach

jest pozytywnie regulowana przez cytokininy, negatywnie zaś przez auksyny [41]. Białko GLK2 zwiększa ekspresję wielu genów zaangażowanych w biosyntezę chlorofilu m.in. *HEMA1* i *CHLH* [100]. Obecny stan wiedzy pozwala wnioskować, iż podczas deetiolacji HY5 jest zaangażowany w regulację szlaków sygnalizacyjnych związanych również z innymi fitohormonami [45, 112]. Jednak mnogość odpowiedzi zależnych od podwyższonej zawartości HY5 utrudnia tym samym precyzyjne określenie, jaką rolę odgrywają te procesy bezpośrednio w regulacji biosyntezy chlorofilu.

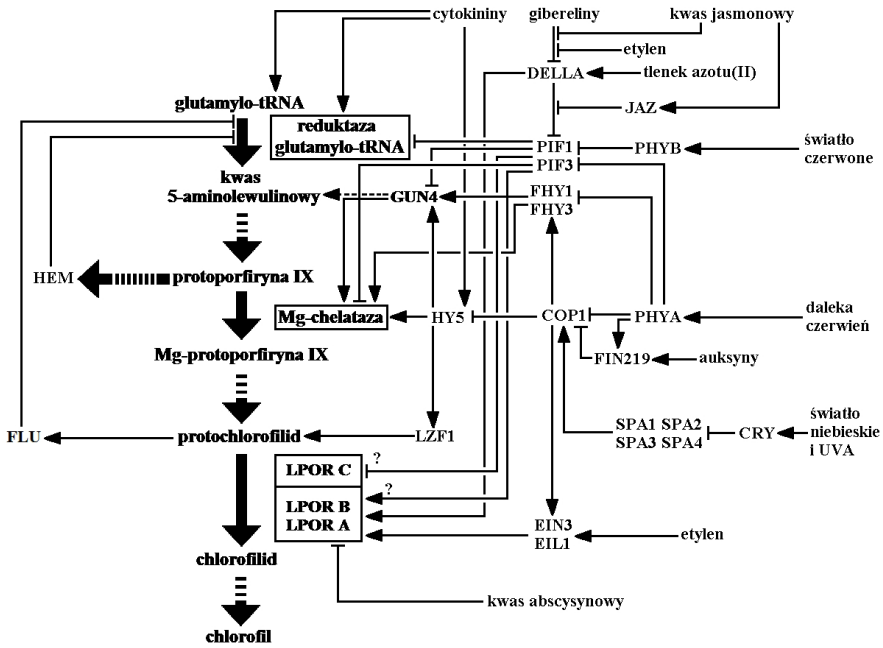
PODSUMOWANIE

Wyjaśnienie wszystkich problemów dotyczących mechanizmów regulacji biosyntezy chlorofilu jest wciąż dalekie od zakończenia. Wynika to m.in. z alternatywnych sposobów regulacji ekspresji genów związanych z produkcją chlorofilu, w tym np. przez cukry, a także występowania izoform enzymów szlaku biosyntezy chlorofilu, których działanie jest ograniczone wyłącznie do określonych typów tkanek i organów [55, 95]. Na zawartość chlorofilu ma również wpływ stężenie określonych jonów w podłożu, zwłaszcza potasu i wapnia [89]. Konieczna jest obecność tlenu [99]. W pełni zrozumiałym utrudnieniem jest również nakładanie się i wzajemne przenikanie poszczególnych szlaków sygnałowych, w tym także tych nie zaangażowanych bezpośrednio w kontrolę biosyntezy chlorofilu. Zjawisko to ilustruje to schemat przedstawiony na ryc. 1. Podsumowuje on obecny stan wiedzy o molekularnych mechanizmach integrujących sygnały środowiskowe i biosyntezę chlorofilu w *Arabidopsis thaliana*. Stopień skomplikowania może wydawać się przytłaczający, lecz istotą całej tej sieci powiązań jest regulacja aktywności zaledwie trzech enzymów: reduktazy glutamylo-tRNA, Mg-chelatazy i LPOR. Istnieją natomiast przesłanki, że także inne etapy mogą podlegać kontroli, co zostało dokładniej omówione w [35]. Niestety, regulacja wielu etapów biosyntezy chlorofilu jest zbadana jedynie na poziomie ekspresji genów, nie zawsze jednak na poziomie białka. Dlatego też interpretacja poszczególnych obserwacji jest nie jest łatwa. Jest jednakże konieczna, gdyż to właśnie zależna od chlorofilu fotosynteza kształtuje oblicze naszej planety i pozwala żyć nam wszystkim.

PODZIĘKOWANIA

Praca powstała podczas realizacji projektu badawczego MNiSzW N 303 498 438 „Rola białkowych regulatorów fotomorfogenezy roślin w kontroli procesu biosyntezy chlorofilu”.

Autorzy wyrażają serdeczne podziękowanie dr Magdalenie Kędrze z Zakładu Fizjologii i Biochemii Roślin WBBiB UJ za cenne uwagi redakcyjne.



RYCINA 1. Wybrane szlaki regulacji biosyntezy chlorofilu w roślinach okrytonasiennych. Reakcja katalizowana przez reduktazę glutamylo-tRNA rozpoczyna syntezę chlorofilu w plastydach roślin. Jednak dopiero wprowadzenie jonu Mg^{2+} do pierścienia protoporfiryny IX jest reakcją charakterystyczną wyłącznie dla biosyntezy chlorofilu, ostatecznie rozdzielając szlaki biosyntezy chlorofilu i hemu. W toku kolejnych reakcji powstaje protochlorofilid, który może ulegać przekształceniu do chlorofilidu przy udziale oksydoreduktazy NADPH-protochlorofilid (LPOR), która wymaga do swojej aktywności światła [57, 77]. Estryfikacja fitolem prowadzi do powstania chlorofilu [90]. W ciemności dochodzi do nagromadzenia protochlorofilidu, który aktywuje białko FLU [56], zwrotnie hamując aktywność reduktazy glutamylo-tRNA [67]. Natomiast przy obniżonej aktywności Mg-chelatazy dochodzi do nagromadzenia hemu, który również prowadzi do zahamowania reduktazy glutamylo-tRNA [64]. Brak światła prowadzi do akumulacji białka COP1 [109] oraz jego aktywacji przy udziale białek SPA [73], co przyczynia się do spadku zawartości czynnika transkrypcyjnego HY5 [28]. Przekłada się to na brak transkrypcyjnej aktywacji genów reduktazy glutamylo-tRNA i Mg-chelatazy. Dodatkowo, ekspresja obu tych genów jest aktywnie hamowana przy udziale gromadzących się w ciemności czynników PIF1 i PIF3. Oba te czynniki hamują także ekspresję genu *GUN4* [85], którego białkowy produkt pozytywnie koreluje ze stężeniem 5-ALA i jest konieczny do aktywacji Mg-chelatazy [36]. Jednocześnie wzrost stężenia COP1 koreluje z rosnącą zawartością czynników EIN3 i EIL1, które stymulują ekspresję genów *LPOR A* i *LPOR B* [113]. Pewną rolę w regulacji ekspresji LPOR odgrywają prawdopodobnie także czynniki PIF [12]. Białka DELLA mogą łączyć się z czynnikami PIF, blokując ich działanie [12, 20]. Białka JAZ, których aktywność jest zależna od kwasu jasmonowego blokują działanie DELLA [106]. Akumulację DELLA nasila NO [50], natomiast gibereliny inicjują ich degradację, która może zostać spowolniona działaniem etylenu [1] lub kwasu jasmonowego [107]. Światło hamuje aktywność COP1, co prowadzi do wzrostu zawartości HY5. Jednocześnie fitochromy (PHY) inicjują degradację czynników PIF. Przyczynia się do wzrostu produkcji reduktazy glutamylo-tRNA i Mg-chelatazy [85]. W obecności światła aktywność LPOR zapobiega nagromadzeniu się protochlorofilidu i zahamowaniu syntezy chlorofilu przez FLU. Dodatkowo, stężenie HY5, glutamylo-tRNA i reduktazy glutamylo-tRNA może zostać podwyższone na skutek działania cytokinin [109]. Wykazano także negatywny wpływ kwasu abscysynowego na ekspresję *LPOR* [44].

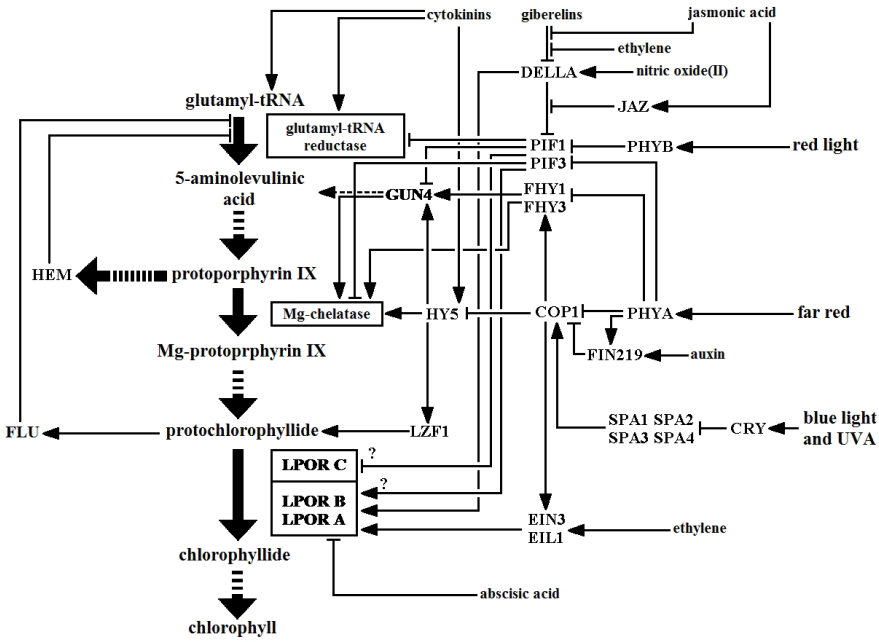


FIGURE 1. Molecular control of chlorophyll biosynthesis pathway in angiosperms.
Chlorophyll biosynthesis in plants is initiated in plastids by glutamyl-tRNA reductase, producing 5-aminolevulinic acid. However, one of the most critical steps during chlorophyll biosynthesis is incorporation of magnesium ion into protoporphyrin IX. That reaction, catalyzed by magnesium chelatase finally separate chlorophyll biosynthesis pathway from heme biosynthesis pathway. Further reactions involve protochlorophyllide to chlorophyllide conversion, catalyzed by light-dependent oxidoreductase NADPH:protochlorophyllide (LPOR) [55, 77]. Final step of chlorophyll biosynthesis is esterification with phytol [90]. In darkness chlorpohyllide synthesis is blocked and protochlorophyllide concentration is rising, thus activating FLU protein [56]. FLU in classic negative feedback loop inhibits activity of glutamyl-tRNA reductase [67]. Reduced activity of Mg-chelatase increase concentration of heme, which also leads to the inhibition of glutamyl-tRNA reductase [64]. In darkness COP1 protein is accumulated [109] and activated by SPA proteins [73], which contributes to rapid degradation of HY5 transcription factor [28]. Importantly, HY5 activates transcription of glutamyl-tRNA reductase and Mg-chelatase genes. In addition, expression of both these genes is actively inhibited by PIF1 and PIF3 factors. Both of these factors may also inhibit GUN4 gene expression [85]. GUN4 protein concentration positively correlates with the concentration of 5-ALA and additionally, is essential for Mg-chelatase activation [36]. At the same time increase of the COP1 protein concentration correlates with increasing content of EIN3 and EIL1 factors, which stimulate *LPOR A* and *LPOR B* genes expression [113]. Some data suggests, that PIFs might also affect *LPOR* genes expression [12]. DELLA proteins can bind with PIFs, blocking their activity [12, 20]. DELLA activity can be in turn blocked by JAZ proteins, accumulated in the presence of jasmonic acid [106], whereas NO promotes accumulation of DELLA [50]. NO stimulate degradation of gibberellins and thus, slows down the action of ethylene [1] or jasmonic acid [107]. In the presence of light COP1 protein is rapidly inactivated and thus, HY5 concentration rises. At the same time phytochromes (PHY) initiate degradation of PIFs, inducing glutamyl-tRNA reductase and Mg-chelatase synthesis [85]. Light activates LPOR, allowing chlorophyllide synthesis and on the other hand preventing protochlorophyllide accumulation. Thus, FLU is no longer activated, allowing 5-ALA synthesis, blocked in darkness. In addition, the concentration of HY5, glutamyl-tRNA and glutamyl-tRNA reductase can be increased even further by the cytokinins [109]. Contrastly, abscisic acid has a negative effect on the expression of *LPOR* genes [44].

LITERATURA:

[1] Achard P, Vriezen Wh, Straeten D Van Der, Harberd Np. Ethylene Regulates *Arabidopsis* Development via the Modulation of DELLA Protein Growth Repressor Function. *Plant Cell* 2003; **15**: 2816-2825.

[2] Alscher RG, Castelfranco PA. Stimulation by Ethylene of Chlorophyll Biosynthesis in Dark-grown Cucumber Cotyledons. *Plant Physiol* 1972; **50**: 400-403.

[3] An F, Zhao Q, Ji Y, Lia W, Jianga Z, Yua X, Zhanga C, Hana Y, Hea W, Liub Y, Zhangb S, Eckerc JR, Guoa H. Ethylene-induced stabilization of ETHYLENE INSENSITIVE3 and EIN3-LIKE1 is mediated by proteasomal degradation of EIN3 binding F-box 1 and 2 that requires EIN2 in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2010; **22**: 2384-401.

[4] Armstrong G, Runge S, Frick G, Sperling U, Apel K. Identification of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductases A and B: a branched pathway for light-dependent chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 1995; **108**: 1505-17.

[5] Arnim AG Von, Osterlund T, Kwok SF, Deng X. Genetic and Developmental Control of Nuclear Accumulation of COPI , a Repressor of Photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 1997; **114**: 779-788.

[6] Barnes S, Nishizawa NK, Quaggio RB, Whitelam GC, Chua NH. Far-red light blocks greening of *Arabidopsis* seedlings via phytochrome A-mediated change in plastid development. *Plant Cell* 1996; **8**: 601-15.

[7] Benková E, Witters E, Van Dongen W, Kolar J, Motyka V, Brzobohatý B, Van Onckelen HA, Machácková I. Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts. Occurrence and changes due to light/dark treatment. *Plant Physiol* 1999; **121**: 245-52.

[8] Boccalandro E, Rossi MC, Saijo Y, Deng X. Promotion of photomorphogenesis by COP1. *Plant Mol Biol* 2005; 56: 905-915.

[9] Bougri O, Grimm B. Members of a low-copy number gene family encoding glutamyl-tRNA reductase are differentially expressed in barley. *Plant J* 1996; **9**: 867-878.

[10] Buschmann C, Lichtenthaler H. The effect of cytokinins on growth and pigment accumulation of radish seedlings (*Raphanus sativus* L.) grown in the dark and at different light quanta fluence rate. *Photochemistry and Photobiology* 2008; **35**: 217-221.

[11] Chang Cj, Li Y, Chen L, Chen Wc, Hsieh Wp, Shin J, Jane Wn, Chou Sj, Choi G, Hu Jm, Somerville S, Wu Sh. Lzf1, a HY5-regulated transcriptional factor , functions in Arabidopsis de-etiolation. *Plant J* 2008; **54**: 205-219.

[12] Cheminant S, Wild M, Bouvier F, Pelletier S, Renou JP, Erhardt M, Hayes S, Terry MJ, Genschik P, Achard P. DELLAs regulate chlorophyll and carotenoid biosynthesis to prevent photooxidative damage during seedling deetiolation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2011; **23**: 1849-60.

[13] Chen F, Shi X, Chen L, Dai M, Zhou Z, Shen Y, Li J, Li G, Wei N, Deng XW. Phosphorylation of FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL1 Is a Key Mechanism Defining Signaling Dynamics of Phytochrome A under Red and Far-Red Light in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 2012; **24**:1907-1920.

[14] Chory J, Reinecke D, Sim S, Washburn T, Brenner M. A Role for Cytokinins in De-Etiolation in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 1994; **104**: 339-347.

[15] Christie JM. Phototropin Blue-Light Receptors. *Annu Rev Plant Biol* 2007; **58**: 21-45.

[16] Cluis CP, Mouchel CF, Hardtke CS. The *Arabidopsis* transcription factor HY5 integrates light and hormone signaling pathways. *Plant J* 2004; 38: 332-47.

[17] Czarnecki O, Gläber C, Chen JG, Mayer KFX, Grimm B. Evidence for a contribution of ALA synthesis to plastid-to-nucleus signaling. *Front Plant Sci* 2012; **3**:236.

[18] Egorov SY, Krasnovskii AA, Papkovskii DB, Ponomarev GV, Savitskii AP. Photoinduced singlet oxygen formation in aqueous solutions of covalent porphyrin-antibody conjugates. *Bull Exp Biol Med* 1990; **109**: 454-456.

[19] Ellis CM, Nagpal P, Young JC, Hagen G, Guilfoyle TJ, Reed JW. AUXIN RESPONSE FACTOR1 and AUXIN RESPONSE FACTOR2 regulate senescence and floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 2005; **132**: 4563-74.

[20] Feng S, Martinez C, Gusmaroli G, Wang Y, Zhou J, Wang F, Chen L, Yu L, Iglesias-Pedraz Jm, Kircher S, Schäfer E, Fu X, Fan LM, Deng XW. Coordinated regulation of *Arabidopsis thaliana* development by light and gibberellins. *Nature* 2008; **451**: 475-479.

[21] Fletcher RA, Mccullagh D. Cytokinin-induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons. *Planta* 1971; **101**: 88-90.

[22] Franklin KA, Quail PH. Phytochrome functions in *Arabidopsis* development. *J Exp Bot* 2010; **61**: 11-24.

[23] Frosch S, Bergfeld R, Mehnert C, Wagner E. Ribulose bisphosphate carboxylase capacity and chlorophyll content in developing seedlings of *Chenopodium rubrum* L. growing under light of different qualities and fluence rates. *Photosynth Res* 1985; **7**: 41-57.

[24] Fu X, Harberd NP. Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response. *Nature* 2003; **421**: 740-3.

[25] Gough SP, Kannangara CG. Biosynthesis of d-Aminolevulinatem in greening barley leaves III: the formation of d-Aminolevuilinate in *tigrina* mutants of barley. *Carlsberg Research Communications* 1979; **44**: 403-416.

[26] Griffiths WT. Some observations on chlorophyll(ide) synthesis by isolated etioplasts. *Biochem J* 1975; **146**: 17-24.

[27] Hardtke CS, Deng XW. The cell biology of the COP/DET/FUS proteins. regulating proteolysis in photomorphogenesis and beyond?, *Plant Physiol* 2000;**124**: 1548-1557.

[28] Hardtke CS, Gohda K, Osterlund MT, Oyama T, Okada K, Deng XW. HY5 stability and activity in *Arabidopsis* is regulated by phosphorylation in its COP1 binding domain. *EMBO J* 2000; **19**: 4997-5006.

[29] Hsieh H, Okamoto H, Wang M, Ang LH, Matsui M, Goodman H, Deng XW. *FIN219*, an auxin-regulated gene, defines a link between phytochrome A and the downstream regulator COP1 in light control of *Arabidopsis* development. *Genes Dev* 2000; **14**:1958-1970.

[30] Huang X, Ouyang X, Yang P, Lau OS, Li G, Li J, Chen H, Deng XW. Arabidopsis FHY3 and HY5 positively mediate induction of COP1 transcription in response to photomorphogenic UV-B light. *Plant Cell* 2012; **24**: 4590-606.

[31] Hutin C, Nussaume L, Moise N, Moya I, Kloppstech K, Havaux M. Early light-induced proteins protect *Arabidopsis* from photooxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 4921-6.

[32] Ilag LL, Kumar M, Söll D. Light regulation of chlorophyll biosynthesis at the level of 5-aminolevulinate formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 1994; **6**: 265-75.

[33] Iñigo S, Barber MR, Sánchez-Lamas M, Iglesias FM, Cerdán PD. The Photomorphogenic Signal: An Essential Component of Photoautotrophic Life. Advances in Photosynthesis – Fundamental Aspects, Mohammad Najafpour (Ed.), In Tech, DOI: 10.5772/29034; (http://www.intechopen.com/books/advances-in-photosynthesis-fundamental-aspects/thephotomorphogenic-signal-an-essential-component-of-photoautotrophic-life). pp. 191-214.

[34] Jaleel CA, Azooz MM. Exogenous calcium alters pigment composition, γ-glutamyl kinase and proline oxidase activities in salt-stressed *Withania somnifera*. *Plant Omics J* 2009; **2**: 85-90.

[35] Jedynak P, Strzałka K, Malec P. Light regulation of chlorophyll biosynthesis in angiosperm plants: the role of photoreceptors and the photomorphogenesis repressor COP1. In: "PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS: chemical structure, biological function and ecology", Golovko TK, Gruszecki WI, Prasad MNV, Strzałka KJ (Eds.) Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, 2014; ISBN 978-5-89606-506-7, pp. 86-107.

[36] Jiang X, Li H, Wang T, Peng C, Wang H, Wu H, Wang X. GIBBERELLIN INDIRECTLY promotes chloroplast biogenesis as a means to maintain the chloroplast population of expanded cells. *Plant J* 2012; **72**: 768-80.

[37] Kaul K, Sabharwal PS. Effects of sucrose and kinetin on growth and chlorophyll synthesis in tobacco tissue cultures. *Plant Physiol* 1971; **47**: 691-5.

[38] Khan NA. NaCl inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and antioxidative enzyme activities in wheat. *Biol Plant* 2003; **47**: 437-440.

[39] Kim BH, Malec P, Waloszek A, Von Arnim AG. *Arabidopsis* BPG2: a phytochrome-regulated gene whose protein product binds to plastid ribosomal RNAs. *Planta* 2012; **236**: 677-90.

[40] Klein S, Katz E, Neeman E. Induction of 5-Aminolevulinic Acid Formation in Etiolated Maize Leaves Controlled by Two Light Systems. *Plant Physiology* 1977; **60**: 335-338.
[41] Kobayashi K, Baba S, Obayashi T, Sato M, Toyooka K, Keränen M, Aro EM, Fukaki H, Ohta H, Sugimoto K, Masuda T. Regulation of root greening by light and auxin/cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2012; **24**: 1081-95.
[42] Kuroda H, Masuda T, Fusada N, Ohta H, Takamiya K. Cytokinin-induced Transcriptional Activation of NADPH-protochlorophyllide Oxidoreductase Gene in Cucumber. *J Plant Res* 2001; **114**: 1-7.
[43] Kutsenov V, Herrmann RG, Kulaeva ON, Oelmüller R. Cytokinin stimulates and abscisic acid inhibits greening of etiolated *Lupinus luteus* cotyledons by affecting the expression of the light-sensitive protochlorophyllide oxidoreductase. *Mol Gen Genet* 1998; **259**: 21-8.
[44] Larkin RM, Alonso JM, Ecker JR, Chory J. GUN4, a regulator of chlorophyll synthesis and intracellular signaling. *Science* 2003; **299**: 902-906.
[45] Lau OS, Deng XW. Plant hormone signaling lightens up: integrators of light and hormones. *Curr Opin Plant Biol* 2010; **13**: 571-7.
[46] Lebedev N, van Cleve B. Chlorophyll synthesis in a deetiolated (det340) mutant of Arabidopsis without NADPH-Protochlorophyllide (Pchlide) oxidoreductase (POR) a and photoactive pchlide-F655. *Plant Cell* 1995; **7**: 2081-2090.
[47] Lee J, He K, Stolc V, Lee H, Figueroa P, Gao Y, Tongprasit W, Zhao H, Lee I, Deng XW. Analysis of Transcription Factor HY5 Genomic Binding Sites Revealed Its Hierarchical Role in Light Regulation of Development. *Plant Cell* 2007; **19**: 731-749.
[48] Lee KP, Kim C, Lee DW, Apel K. TIGRINA d, required for regulating the biosynthesis of tetrapyrroles in barley, is an ortholog of the FLU gene of *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* 2003; **553**: 119-24.
[49] Lian H-L, He S-B, Zhang Y-C, Zhu DM, Zhang JY, Jia KP, Sun SX, Li L, Yang HQ. Blue-light-dependent interaction of cryptochrome 1 with SPA1 defines a dynamic signaling mechanism. *Genes Dev* 2011; **25**: 1023-8.
[50] Lozano-Juste J, León J. Nitric oxide regulates DELLA content and PIF expression to promote photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2011; **156**: 1410-23.
[51] Masoner M, Kasemir H. Control of chlorophyll synthesis by phytochrome. *Planta* 1975; **126**: 111-117.
[52] Masuda T, Ohta H, Shioi Y, Tsuji H, Takamiya K. Stimulation of Glutamyl-tRNA Reductase Activity by Benzyladenine in Greening Cucumber Cotyledons. Plant Cell Physiol 1995; 36: 1237-1243.
[53] Masuda T, Takamiya K. Novel insights into the enzymology, regulation and physiological functions of light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase in angiosperms. *Photosynth Res* 2004; **81**: 1-29.
[54] Mccormac AC, Terry MJ. Light-signalling pathways leading to the co-ordinated expression of HEMA1 and Lhcb during chloroplast development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2002; **32**: 549-59.
[55] Mccormac AC, Terry MJ. Loss of Nuclear Gene Expression during the Phytochrome A-Mediated Far-Red Block of Greening Response. *Plant Physiol* 2002; **130**: 402-14.
[56] Meskauskiene R, Nater M, Goslings D, Kessler F, Camp R DEN, Apel K. FLU : A negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; **98**: 12826-3.
[57] Myśliwa-Kurdziel B, Strzałka K. Indukowana światłem redukcja protochlorofilidu u okrytonasiennych, a rozwój chloroplastów. *Postępy Biochemii* 2010, **56**: 418-426.
[58] Nakazawa M, Yabe N, Ichikawa T, Yamamoto YY, Yoshizumi T, Hasunuma K. DFL1, an auxin-responsive GH3 gene homologue, negatively regulates shoot cell elongation and lateral root formation , and positively regulates the light response of hypocotyl length. *Plant J* 2001; **25**: 213-21.
[59] Oelze-Karow H, Mohr H. Phytochrome Action on Chlorophyll Synthesis – A Study of the Photoreversibility. *Plant Physiol* 1982; **70**: 863-866.
[60] Osterlund MT, Deng X. Multiple photoreceptors mediate the light-induced reduction of GUS-COP1 from Arabidopsis hypocotyl nuclei. *Plant J* 1998; **16**: 201-208.

[61] Ougham HJ, Thomas M, Thomas BJ, Frick G, Armstrong G. Both light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase A and protochlorophyllide oxidoreductase B are down-regulated in the slender mutant of barley. *J Exp Bot* 2001; **52**: 1447-54.

[62] Oyama T, Shimura Y, Okada K. The *Arabidopsis* HY5 gene encodes a bZIP protein that regulates stimulus-induced development of root and hypocotyl. *Genes Dev* 1997; **11**: 2983-2995.

[63] Peter E, Grimm B. GUN4 Is Required for Posttranslational Control of Plant Tetrapyrrole Biosynthesis. *Molecular Plant* 2009; **2**: 1198-1210.

[64] Pontoppidan B, Kannangara CG. Purification and partial characterisation of barley glutamyl-tRNAGlu reductase, the enzyme that directs glutamate to chlorophyll biosynthesis. *Eur J Biochem* 1994; **225**: 529-537.

[65] Poonam S, Kaur H, Geetika S. Effect of Jasmonic Acid on Photosynthetic Pigments and Stress Markers in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. Seedlings under Copper Stress. *American J Plant Sci* 2013; **4**: 817-823.

[66] Porri A, Torti S, Romera-Branchat M, Coupland G. Spatially distinct regulatory roles for gibberellins in the promotion of flowering of *Arabidopsis* under long photoperiods. *Development*. 2012; **139**: 2198-209.

[67] Richter A, Peter E, Pörs Y, Lorenzen S, Grimm B, Czarnecki O. Rapid dark repression of 5-aminolevulinic acid synthesis in green barley leaves. *Plant Cell Physiol* 2010; **51**: 670-81.

[68] Richter R, Behringer C, Müller IK, Schwechheimer C. The GATA-type transcription factors GNC and GNL/CGA1 repress gibberellin signaling downstream from DELLA proteins and PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS. *Genes Dev* 2010; **24**: 2093-104.

[69] Richter R, Behringer C, Zourelidou M, Schwechheimer C. Convergence of auxin and gibberellin signaling on the regulation of the GATA transcription factors GNC and GNL in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS* 2013; **110**: 13192-97.

[70] Rizza A, Boccaccini A, Lopez-Vidriero I, Costantino P, Vittorioso P. Inactivation of the ELIP1 and ELIP2 genes affects *Arabidopsis* seed germination. *New Phytol* 2011; **190**: 896-905.

[71] Rossini S, Casazza AP, Engelmann ECM, Havaux M, Jennings RC, Soave C. Suppression of Both ELIP1 and ELIP2 in *Arabidopsis* Does Not Affect Tolerance to Photoinhibition and Photooxidative Stress. *Plant Physiol* 2006; **141**: 1264-1273.

[72] Runge S, Van Cleve B, Lebedev N, Armstrong G, Apel K. Isolation and classification of chlorophyll-deficient xantha mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 1995; **197**: 490-500.

[73] Saijo Y, Sullivan JA, Wang H, Yang J, Shen Y, Rubio V, Ma L, Hoecker U, Deng XW. The COP1 − SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity The COP1 – SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity. *Genes Dev* 2003; **17**: 2642-2647.

[74] Saijo Y, Zhu D, Li J, Rubio V, Zhou Z, Shen Y, Hoecker U, Wang H, Deng XW. *Arabidopsis* COP1/SPA1 complex and phytochrome A signaling intermediates associate with distinct phosphorylated forms of phytochrome A in balancing signal propagation and attenuation. *Mol Cell* 2008; **31**: 607-613.

[75] [75] Saniewski M, Urbanek H, Czapski J. Effects of Methyl Jasmonate on Ethylene Production, Chlorophyll Degradation, and Polygalacturonase Activity in Tomatoes. *J Plant Physiol* 1987; **127**: 177-181.

[76] Schoefs B, Franck F. Chlorophyll synthesis in dark-grown pine primary needles. *Plant Physiol* 1998; **118**: 1159-68.

[77] Schoefs B, Franck F. Protochlorophyllide reduction: mechanisms and evolutions. *Photochem Photobiol* 2003, **78**: 543-557.

[78] Seo HS, Watanabe E, Tokutomi S, Nagatani A, Chua N-H. Photoreceptor ubiquitination by COP1 E3 ligase desensitizes phytochrome A signaling. *Genes Dev* 2004; **18**: 617-22.

[79] Shah SH. Effects of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. *Gen. Appl. Plant Physiol* 2007; **33**: 97-106.

[80] Shen Y, Feng S, Ma L, Lin R, Qu LJ, Chen Z, Wang H, Deng XW. *Arabidopsis* FHY1 Protein Stability Is Regulated by Light via Phytochrome A and 26S Proteasome. *Plant Physiol* 2005; **139**:1234-43.
[81] Singh G, Jain S. Effect of some growth regulators on certain biochemical parameters during seed development in chickpea under salinity. *Indian J Plant Physiol* 1981; **20**: 167-179.
[82] Smirnova OG, Stepanenko IL, Shumny VK. Mechanism of action and activity regulation of COP1, a constitutive repressor of photomorphogenesis. *Russ J Plant Physiol* 2012; **59**: 155-166.
[83] Smith H. Physiological and ecological function within phytochrome family. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1995; **46**: 289-315.
[84] Soejima H, Sugiyama T, Ishihara T. Changes in the Chlorophyll Contents of Leaves and in Levels of Cytokinins in Root Exudates during Ripening of Rice Cultivars Nipponbare and Akenohoshi. Plant Cell Physiol 1995; 36: 1105-1114.
[85] Stephenson PG, Fankhauser C, Terry MJ. PIF3 is a repressor of chloroplast development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 7654-9.
[86] Stephenson PG, Terry MJ. Light signalling pathways regulating the Mg-chelatase branchpoint of chlorophyll synthesis during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana*. *Photochem Photobiol Sci* 2008; **7**:1243-52.
[87] Sullivan JA, Deng XW. From seed to seed: the role of photoreceptors in Arabidopsis development. *Dev Biol* 2003; **260**: 289-297.
[88] Swarup R, Parry G, Graham N, Allen T, Bennett M. Auxin cross-talk: integration of signalling pathways to control plant development. *Plant Mol Biol* 2002; **49**: 411-26.
[89] Tanaka A, Tsuji H. Effects of calcium on chlorophyll synthesis and stability in the early phase of greening in cucumber cotyledons. *Plant Physiol* 1980; **65**: 1211-5.
[90] Tanaka R, Kobayashi K, Masuda T. 2011. Tetrapyrrole Metabolism in *Arabidopsis thaliana* In: The *Arabidopsis* Book, Number 9. 2011. The American Society of Plant Biologists URL: http://www.bioone.org/doi/full/10.1199/tab.0145, pp. 1-40.
[91] Tang W, Wang W, Chen D, Ji Q, Jing Y, Wang H, Lina R. Transposase-Derived Proteins FHY3/FAR1 Interact with PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR1 to Regulate Chlorophyll Biosynthesis by Modulating HEMB1 during Deetiolation in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 2012; **24**: 1984-2000.
[92] Triantaphylidès C, Havaux M. Singlet oxygen in plants: production, detoxification and signaling. *Trends Plant Sci* 2009; **14**: 219-28.
[93] Tzvetkova-Chevolleau T, Franck F, Alawady AE, Dall'osto L, Carrière F, Bassi R, Grimm B, Nussaume L, Havaux M. The light stress-induced protein ELIP2 is a regulator of chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2007; **50**: 795-809.
[94] Ueda J, Saniewski M. Methyl jasmonate-induced stimulation of chlorophyll formation in the basal part of tulip bulbs kept under natural light conditions. *J Fruit Ornamental Plant Res* 2006; **14**: 199-210.
[95] Ujwal ML, Mccormac AC, Goulding A, Kumar AM, Söll D, Terry MJ. Divergent regulation of the HEMA gene family encoding glutamyl-tRNA reductase in *Arabidopsis thaliana*: expression of HEMA2 is regulated by sugars, but is independent of light and plastid signaling. *Plant Mol Biol* 2002; **50**: 83-91.
[96] Usami T, Mochizuki N, Kondo M, Nishimura M, Nagatani A. Cryptochromes and phytochromes synergistically regulate Arabidopsis root greening under blue light. *Plant Cell Physiol* 2004; **45**: 1798-808.
[97] Vandenbussche F, Habricot Y, Condiff AS, Maldiney R, Van Der Straeten D, Ahmad M. HY5 is a point of convergence between cryptochrome and cytokinin signalling pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2007; **49**: 428-41.
[98] Wang H. Direct Interaction of Arabidopsis Cryptochromes with COP1 in Light Control Development. *Science* 2001; **294**: 154-158.
[99] Wang WY. Photoactivation of Chlorophyll Synthesis and Cytochrome Oxidase Activity in Anaerobically Germinated Seedlings of *Echinochloa crusgalli* var. *Oryzicola*. *Plant Physiol* 1980; **65**: 451-4.
[100] Waters MT, Wang P, Korkaric M, Capper RG, Saunders NJ, Langdale J. GLK transcription factors coordinate expression of the photosynthetic apparatus in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2009; **21**: 1109-28.

[101] Weller JL, Hecht V, Vander Schoor JK, Davidson SE, Ross JJ. Light regulation of gibberellin biosynthesis in pea is mediated through the COP1/HY5 pathway. *Plant Cell* 2009; **21**: 800-13.
[102] Wheeler AW, Humphries EC. Effect of Gibberellic Acid on Growth, Gibberellin Content, and Chlorophyll Content of Leaves of Potato (*Solanum tuberosum*). *J Exp Bot* 1963; **14**: 132-136.
[103] Whenham RJ, Fraser RS, Brown LP, Payne JA. Tobacco-mosaic-virus-induced increase in abscisic-acid concentration in tobacco leaves: Intracellular location in light and dark-green areas, and relationship to symptom development. *Planta* 1986; **168**: 592-8.
[104] Wierstra I, Kloppstech K. Differential effects of methyl jasmonate on the expression of the early light-inducible proteins and other light-regulated genes in barley. *Plant Physiol* 2000; **124**: 833-44.
[105] Yamazaki H, Nishijima T, Koshioka M. Effects of (+)-S-Abscisic Acid on the Quality of Stored Cucumber and Tomato Seedlings. *Hort Science* 1995; **30**: 80-82.
[106] Yamburenko MV, Zubo YO, Vanková R, Kusnetsov VV, Kulaeva ON, Börner T. Abscisic acid represses the transcription of chloroplast genes. *J Exp Bot* 2013; **64**: 4491-502.
[107] Yang D, Yao J, Mei C, Tong XH, Zeng LJ, Li Q, Xiao LT, Sun TP, Li J, Deng XW, Lee CM, Thomashow MF, Yang Y, He Z, He SY. Plant hormone jasmonate prioritizes defense over growth by interfering with gibberellin signaling cascade. *PNAS* 2012; **109**: 1192-1200.
[108] Yang J, Lin R, Sullivan J, Hoecker U, Liu B, Xu L. Light Regulates COP1-Mediated Degradation of HFR1, a Transcription Factor Essential for Light Signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2005; **17**: 804-821.
[109] Yaronskaya E, Vershilovskaya I, Poers Y, Alawady AE, Averina N, Grimm B. Cytokinin effects on tetrapyrrole biosynthesis and photosynthetic activity in barley seedlings. *Planta* 2006; **224**: 700-9.
[110] Yi C, Deng XW. COP1 – from plant photomorphogenesis to mammalian tumorigenesis. *Trends in Cell Biology* 2005; **15**: 9-16.
[111] Yu Y, Wang J, Zhang Z, Quan R, Zhang H, Deng XW, Ma L, Huang R. Ethylene Promotes Hypocotyl Growth and HY5 Degradation by Enhancing the Movement of COP1 to the Nucleus in the Light. *PLoS Genet* 2013; **9**: 1-13.
[112] Zhang H, He H, Wang X, Wang X, Yang X, Li L, Deng XW. Genome-wide mapping of the HY5-mediated gene networks in *Arabidopsis* that involve both transcriptional and post-transcriptional regulation. *Plant J* 2011; **65**: 346-58.
[113] Zhong S, Shi H, Xi Y, Guo H. Ethylene is crucial for cotyledon greening and seedling survival during de-etiolation. *Plant Signalling and Behavior* 2010; **5**: 739-742.
[114] Zhong S, Zhao M, Shi T, Shi H, An F, Zhao Q, Guo H. EIN3/EIL1 cooperate with PIF1 to prevent photo-oxidation and to promote greening of *Arabidopsis* seedlings. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; **106**: 21431-6.

Redaktor prowadzący – Andrzej Kononowicz

Otrzymano: 22.09.14
Przyjęto: 03.12.14
Przemysław Malec
Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 7, 30-387 Kraków
tel. 12 664 65 20
e-mail: przemysław.malec@uj.edu.pl