

# МАТЕРИНСКИ ЕФЕКАТ ФОТОПЕРИОДА НА НИВОУ ПРОТЕИНА СЕМЕНА КОД БИЉАКА *Chenopodium rubrum* L.

Александра Митровић<sup>1</sup>, Љубинка Ћулафић<sup>2</sup>, Јелена Богдановић Пристов<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Институт за мултидисциплинарна истраживања,  
Универзитет у Београду, Кнеза Бишеслава 1, 11030 Београд, Србија  
<sup>2</sup>Институт за ботанику, Ботаничка башта "Јевремовац", Биолошки факултет,  
Универзитет у Београду, Таковска 43, 11000 Београд, Србија

## Abstract

**MITROVIĆ, Aleksandra, Ljubinka ĆULAFIĆ, Jelena BOGDANOVIĆ PRISTOV:**  
**MATERNAL EFFECT OF PHOTOPERIOD ON THE SEED PROTEINS LEVEL IN**  
***Chenopodium rubrum* L.** [Institute for Multidisciplinary Research, University of Belgrade, Institute  
of Botany and Botanical Garden „Jevremovac“, Faculty of Biology, University of Belgrade, Belgrade,  
Serbia].

Plants have developed unique strategies for responding to changing environmental conditions. Light is one of the most important environmental signals regulating plant development. Photoperiod during induction and evocation of flowering of *Chenopodium rubrum* intact plants *in vitro* determines, not only, its growth till the end of ontogenesis, flowering and seed maturation, but also influences vegetative and reproductive development of its offspring. Environmental effects during development of mother plant on morphological and physiological characteristics of offspring are called maternal environmental effects. Maternal effects of photoperiod in *C. rubrum* extends through the whole life cycle of offspring and persist to the second generation. *C. rubrum* mother plants relay in their seeds a «message» about the day lengths they experienced during their life cycle. We provide evidence that the molecular form of that “message” is, among other, protein in nature.

**Key words:** *Chenopodium rubrum*, germination, growth, flowering, *in vitro*, maternal effect, photoperiod, seed, seed protein.

\*Corresponding author's e-mail: [mita@imsi.rs](mailto:mita@imsi.rs)

## Сажетак

Биљке су развиле специфичне стратегије одговора на променљиве услове спољашње средине. Светлост је један од најзначајнијих сигнала спољашње средине који регулише развиће биљака. Фотопериод коме су интактне биљке *Chenopodium rubrum in vitro* изложене у време индукције и евокације цветања одређује, не само, њихово растење до краја онтогенезе, цветање и сазревање семена, већ и вегетативно и репродуктивно развиће њиховог потомства. Фактори спољашње средине током развића мајке биљке који утичу на морфолошке и физиолошке карактеристике потомства називају се матерински ефекти спољашње средине. Матерински ефекат фотопериода код биљака *C. rubrum* протеже се кроз читав животни циклус потомства и одржава се и у следећој генерацији. Мајке биљке *C. rubrum* остављају у семену „информацију“ о дужинама дана које су „искусиле“ у току свог животног циклуса. Дајемо доказе да је молекулска форма те „информације“, измђу осталог, протеинске природе.

**Кључне речи:** *Chenopodium rubrum*, клијање, растење, цветање, *in vitro*, матерински ефекат, фотопериод, семе, протеини семена.

## УВОД

Биљке, као сесилни организми, не могу да “изаберу” своје окружење и морају да модификују своје растење и развиће према спољашњој средини.

Таква пластичност развића укључује интеграцију различитих сигнала из спољашње средине, што омогућава биљци да синхронизује своје растење са сезонским

променама. Светлост је један од најзначајнијих сигнала спољашње средине који регулише развиће биљака. Биљке региструју квантитет, квалитет, периодичност и смер светлости и према њој модулирају многе физиолошке одговоре, од клијања, преко архитектуре одрасле биљке до репродуктивног развића (Franklin и Whitelam, 2004).

Релативна дужина дана и ноћи у току 24 часа мења се током године и условљава ритмичност у многим биолошким процесима. То је потпуно предвидива промена спољашњих фактора, јер се за сваку географску ширину зна колико ће дневно осветљење бити сваког дана током године. Продужавање, или скраћивање дана, отуда представљају најсигурнији сигнал живим бићима о томе које годишње доба долази (Nešković и сар., 2003). За биљке је од највеће важности да цветају у време које ће им омогућити да пре зиме донесу плод.

Фотопериодски зависне биљке не морају све време до цветања бити изложене одговарајућој дужини дана (критична дужина дана) (Vince-Prue, 1975). Свака врста захтева одређен број индукционих фотопериодских циклуса, после чега ће процветати без обзира на дужину дана којој буде изложена. Транзиција (прелазак) у цветање може се поделити у фазу индукције и фазу евокације цветања, као два „просторно“ одвојена процеса (листови и апикални меристем). Дужина дана којој је биљка изложена у току евокације цветања утицаће на то када ће после примљене индукције процветати, на број цветова, као и број и величину семена.

Овај прегледни рад сумира неке од резултата добијених на модел биљци *Chenopodium rubrum* у нашој лабораторији са циљем бољег разумевања фотопериодске регулације вегетативног и репродуктивног развића кроз више генерација. *In vitro* култура интактних биљака изабрана је због прецизне контроле услова спољашње средине као и састава подлоге.

#### ФОТОПЕРИОДСКА КОНТРОЛА ВЕГЕТАТИВНОГ И РЕПРОДУКТИВНОГ РАЗВИЋА *C. Rubrum*

*C. rubrum* је рано цветајућа врста (Cumming, 1967), са прецизно дефинисаном критичном дужином ноћи од 8h (Tsuchiya и Ishiguri, 1981). Способна је да прими фотопериодски стимулус за цветање већ у фази развића котиледона када јој је довољно свега 6 индукционих фотопериодских циклуса (Seidlová и Opatrná, 1978). Биљке *in vitro* изложене адекватном фотопериодском режиму цветају за 15 дана (Живановић и сар., 1995), а доносе семе за 10 недеља (Митровић и сар., 2007).

#### Фотопериодска контрола растења *C. Rubrum*

Дужина дана има значајан утицај на изглед и висину биљака *C. rubrum* гајених како у *in vitro* условима, тако и у условима стакленика (Coок, 1975; Живановић и сар., 1995; Митровић, 1998; Митровић и сар., 2002). Са порастом дужине дана расте и висина биљака *C. rubrum in vitro* (Слика 1, Слика 2) (Митровић и сар., 2007). Биљке расле на 24h дану (услови неиндукциони за цветање) су око 2 пута више од биљака гајених на 16h/8h фотопериоду, одн. чак око 7 пута више од биљака гајених на 14h/10h фотопериоду (Митровић и сар., 2007). *C. rubrum* гајене *in vivo* на 15h/9h фотопериоду су више, имају већи број нодуса и дуже интернодије у односу на биљке гајене на 12h/12h фотопериоду (Coок, 1975). Једино биљке гајене у непрекидном мраку *in vitro* (24h мрака) не прате тренд односа висине и дужине дана, што је последица етиолираности (Митровић и сар., 2007). Код 22 врсте једногодишњих пустињских биљака Израела уочена је велика разлика у броју листова пре цветања, облику листова, начину гранања у зависности од дужине дана на коме су гајене (Guterman и Evenari, 1972).

Као што је већ речено, биљци *C. rubrum* је за индукцију цветања довољно излагање 6 индукционих фотопериодских циклуса у фази развића котиледона (Opatrná и сар., 1980) и то је фотопериод на који она одговара растењем до краја онтогенезе (Митровић и сар., 2007). Међутим, на растење утиче и фотопериод који следи непосредно после индукције цветања.

Према томе можемо рећи да је растење *C. rubrum* одређено фотопериодом коме су биљке изложене у раним фазама репродуктивног развића (индукција и евокација цветања) (Cook, 1975; Митровић и сар., 2007). Тако, значајна разлика у висини уочава се између група биљака гајених на различитим фотопериодима само првих 6 дана, а на истом преосталих 9 недеља (од укупно 10 недеља колико траје онтогенеза) (Слика 1, Слика 2). Мању разлику у висинама показују биљке гајене на истом фотопериоду првих 6 дана, а на различитим преосталих 9 недеља. Тако на пример, биљке гајене првих 6 дана на 8h/16h фотопериоду а потом пребачене на 16h/8h фотопериод током преосталих 9 недеља биле су дупло ниже од биљака гајених на 16h/8h фотопериоду свих 10 недеља, и истовремено 3 пута више од биљака гајених непрекидно на 8h/16h фотопериоду (Митровић и сар., 2007).

Транзијентно заустављање растења *C. rubrum* (Opatrná и сар., 1980, Ulman и сар., 1980; Митровић, 1998) се уочава у време цветања, што је зависно од фотопериода (Митровић и сар., 2007). Што је дужи индукциони дан, касније започиње цветање, а самим тим и транзијентно заустављање растења везано за њега. Али, што је дан краћи (8h, 9h и 14h), растење се после цветања, скоро потпуно зауставља (Слика 1, Слика 2) (Митровић и сар., 2007). Заустављање растења се не може уочити једино на неиндукционим условима гајења (Митровић и сар., 2007), тј. на 24 часовном дану (биљке не цветају до 10. недеље гајења).

### Фотопериодска контрола цветања сазревања семена *C. Rubrum*

Што је индукциони дан краћи цветање *C. rubrum in vitro* се раније дешава (Слика 3). Најраније цветају биљке гајене у непрекидном мраку (већ после 1. недеље), док оне гајене на 16h дану цветају тек 4. недеље (Митровић и сар., 2007). Осим дужине дана у првих 6 дана, колико је довољно за индукцију цветања *C. rubrum* (Seidlová и Opatrná, 1978; Cumming 1967), на цветање (као и на растење, што смо раније показали) има утицај и фотопериод који затим следи (фотопериод у време евокације цветања). Биљке гајене свих 10 недеља на 14h/10h фотопериоду цветају најраније; оне гајене на овом фотопериоду првих 6 дана, а потом још 9 недеља на 16h/8h цветају нешто касније; најкасније цветају биљке које су свих 10 недеља гајене на 16h/8h фотопериоду (Митровић и сар., 2007).

Дужина дана показује ефекат и на сазревање семена *C. rubrum in vitro* и то како на време сазревања семена (хронолошка старост биљке), тако и на број сазрелих семена по биљци (Слика 4) (Митровић и сар., 2007). Са повећањем дужине дана, “убрзава се” сазревање семена (биљке раније у току онтогенезе доносе семе), а повећава се и број сазрелих семена (Митровић и сар., 2007). Сазревање семена дешава се 4 – 5 недеља по започињању цветања и слично као и цветање показује одговор на дужину дана у време индукције цветања и непосредно после ње (Митровић и сар., 2007).

Биљке расле непрекидно на 8h дану, као и у непрекидном мраку, не доносе семе (Митровић и сар., 2007). Врхови ових биљака већ око седме недеље живота почињу да се суше (Митровић и сар., 2007). За разлику од *C. rubrum*, биљке *Centaureum pulchellum*, гајене у непрекидном мраку *in vitro*, продуковале су семена, али та семена нису била вијабилна (Цветић и сар., 2004).

Највећи број семена *in vitro* сазрева на *C. rubrum* гајеним на најдужем индукционом фотопериоду (16h/8h), док на 14h /10h сазрева око 10 пута мање семена

(Слика 4). *C. rubrum in vivo* продукују значајно већи број семена на 15h/9h у односу на 12h/12h фотопериод (C o o k, 1975).

Маса семена расте са повећањем дужине дана са 14h на 16h на коме су биљке *in vitro* гајене (Слика 5). Критична дужина дана може бити значајно модификована различитим факторима средине: минералним саставом подлоге, температуром, светлосним флуksom, старошћу биљке (B e r n i e g и с а р., 1981). С тога се не сме изузети из разматрања ефекат *in vitro* услова, који непрекидно обезбеђује оптималне услове минералног састава подлоге, температуре, влажности и осветљености. У природи, уз 15h/9h фотопериод (од маја до августа) везане су и високе температуре, и мали садржај влажности ваздуха. Просечна маса семена сазревалих *in vivo* на 15h/9h фотопериоду (М и т р о в и ћ и с а р., 2002) је око 4.5 пута мања од оних сазревалих на 16h/8h *in vitro* (М и т р о в и ћ и с а р., 2007). Ефекат фотопериода на масу семена је под значајним утицајем температуре и код *Chenopodium quinoa* (B e r t e r o и с а р., 1999) као и *Plantago lanceolata* (L а с е у и с а р., 1997).

Семена сазрела на биљкама гајеним у стакленику од јануара до маја, (дужина дана од 9h до 14h) су малобројна и око 4 пута тежа од семена сазревалих од априла до августа (дужина дана од 14h до 15h 33 min) (М и т р о в и ћ и с а р., 2002). Још је C o o k (1975) истакао да на масу семена *C. rubrum* значајно утиче фотопериод на коме се одвијају индукција и евокација цветања. У природи, *C. rubrum* цвета пред јесен, те биљке примају индукцију на најдужим фотопериодима када касни летњи дани постају краћи, а пошто је утврђено да се величина и потенцијални број семена одређују непосредно по иницирању репродуктивног развића, природна индукција иде у правцу минимизирања величине семена и максимизирања бројности семена. Отуда, природна селекција изгледа фаворизује физиолошке механизме који раде на физиолошки субоптималним фотопериодима, који максимизују вероватноћу преживљавања (C o o k, 1975).

Резултати добијени на различитим врстама рода *Chenopodium* (по B e w l e y и V l a s k, 1982) говоре у прилог блиске повезаности између услова спољашње средине и развића семена. Биљке *C. amaraticolor*, *C. polyspermum* и *C. album* гајене на дугим фотопериодима продукују ситна, дормантна семена са дебелом семењачом, док оне гајене на кратким фотопериодима дају крупна, мање дормантна семена са танком семењачом. Све ово може бити део заштитне стратегије расејавања семена, утичући на повећање шансе врсте да преживи (G u t t e r m a n, 2002). Број и средња вредност масе семена су најзначајнији показатељи репродуктивне способности једногодишњих биљака (C o o k, 1975). Адаптивни значај величине семена за сваку врсту, показан је константношћу средње вредности масе семена. И у току нашег рада, утврдили смо да маса семена увек једнако одговара на услове гајења биљака (М и т р о в и ћ и с а р., 2007). Ефекат компетиције је решен бројношћу семена, чинећи величину семена најмање пластичном компонентом (C o o k, 1975).

### **Матерински ефекат фотопериода на вегетативно и репродуктивно развиће потомства *C. rubrum***

Утицаји фактора спољашње средине током развића мајке биљке на морфолошке и физиолошке карактеристике семена (потомство) које продукују у литератури се називају матерински ефекти (G u t t e r m a n и E v e n a r i, 1972). Показано је да материнске ефекте на потомство могу изазвати: минерални састав подлоге, интензитет светлости, температура, фотопериод, ниво CO<sub>2</sub> (по G a l l o w a y, 2005). Матерински ефекти су специфични, а њихова експресија често зависи од средине у којој се потомство развија. Матерински ефекат се испољава током читавог живота потомства, а може опстати кроз неколико генерација (G a l l o w a y, 2005).

Највећи број истраживања која се тичу испитивања материнских ефеката различитих фактора спољашње средине на потомство, се тичу материнских ефеката на карактеристике семена, највише клијање (Cook, 1975; Bewley и Black, 1982; Bertero и сар., 1999; Gutterman 2000), док је много мање података о материнским ефектима различитих фактора спољашње средине на даље фазе развића потомства. Матерински ефекти спољашње средине могу компликовати истраживања, као и интерпретацију резултата (Roach и Wulff, 1982). Свакако, основа ових физиолошких процеса је још увек непозната.

### Матерински ефекат фотопериода на клијање семена

Разлика у дужини дана од само 2h (14h и 16h) на којој су гајене мајке биљке *in vitro* (Митровић и сар., 2007) има ефекта на клијање семена (Митровић и сар., 2010): 35% семена која су приметна и сазрела на 16h дугом дану клијају после 48h имбибиције у односу на 24% семена која су приметна и сазрела на 14h дану (Слика 6). Међутим и фотопериод коме су мајке биљке изложене у првих 6 дана (време када примиле фотопериодску индукцију цветања) има значајан утицај на клијање на њима сазрелих семена (Митровић и сар., 2007). Значајна разлика у клијању (2. дана од почетка имбибиције) се уочава код семена пореклом од биљака гајених на различитим дужинама дана само првих 6 дана (8h, 14h, 16h) иако су преосталих 9 недеља од укупно 10 колико траје онтогенеза гајене на истом фотопериоду (16h/8h): 48%, 22%, 35%. Са друге стране семена сазрела на биљкама гајеним првих 6 дана на истом фотопериоду (14h/10h) а на различитим преосталих 9 недеља (14h и 16h) клијају у истом проценту (22%). Ово потврђује закључке Cook-а (1975) о значајном утицају фотопериода у време индукције цветања и непосредно после тога на карактеристике семена. Gutterman и Evenari (1972) су код 22 врсте једногодишњих пустињских биљака Израела, гајеним на кратком или дугом дану, уочио велику разлику у клијању и дуговечности семена.

Раније смо утврдили (Митровић и сар., 2002) да су семена сазрела у стаклари зими, на краћем дану и нижим температурама, клијала у значајно већем проценту у односу на семена сазрела лети на дужем дану и вишим температурама. Како смо гајењем мајки биљки *in vitro* и при температури од 25 °C добили обрнут однос дужине дана на којима су гајене и клијања њиховог семена, слично као и у случају масе семена, закључујемо да фотопериод и температура којој су биљке изложене показују комбиновани ефекат, како на масу семена која на њима сазревају, тако и на клијање тих семена (Митровић и сар., 2007; Митровић и сар., 2010). И код *Aegilops ovata* (Datta и сар., 1972) семена сазрела на вишим температурама су била лакша и клијала у вишем проценту у односу на она сазрела на нижим температурама. Обрнут однос између клијавости семена и температуре у време његовог сазревања уочен је код соје (Keigley и Mullen, 1986) и код *Chenopodium album* (Karssen, 1970).

Gutterman и Evenari (1972) су писали о зависности вијабилности семена од услова којима је биљка изложена у време сазревања семена, мислећи највише на дужину дана, температуру и квалитет светлости. Семена *Lactuca scaruola* добијена од биљака премештених са дугог на кратак дан на крају фазе развића розете, клијала су значајно брже од оних сакупљених са биљака које су остале на дугом дану (Gutterman и Evenari, 1972). Galloway (2005) је утврдила корелацију између времена цветања мајке биљке *Campanula americana* и времена клијања семена.

### Матерински ефекат фотопериода на растење потомства

Матерински фотопериод показује значајан ефекат на висину потомачких биљака гајених током свих 10 недеља онтогенезе на 14h/10h фотопериоду (Слика 7, Слика 8) (Митровић и сар., 2010). Потомство биљака гајених на 14h/10h фотопериоду је највише у односу на потомства биљака гајених на остала 3 фотопериода, а

истовремено 3 пута више од својих мајки (Митровић и сар., 2007, Митровић и сар., 2010). Значајну разлику у висини уочавамо поредећи потомство биљака гајених само првих 6 дана на различитим фотопериодима (а на истом током преосталих 9 недеља). Потомство мајки биљки гајених првих 6 дана на 14h/10h фотопериоду (а на 16h/8h преосталих 9 недеља) и оно мајки биљки гајених свих 10 недеља на 14h/10h фотопериоду показује слично растење, док је потомство биљака гајених свих 10 недеља на 16h/8h фотопериоду дупло ниже (Слика 7, Слика 8). Значи да биљке информацију о дужини дана коју су искусиле у време индукције цветања преносе на потомство (Митровић и сар., 2007; Митровић и сар., 2010). Мајка биљка „предвиђа“ да ће се њено потомство наћи на фотопериоду који је она искусила у току индукције цветања, што је еволуционо потпуно оправдано са становишта значаја ове фазе развића за остављање потомства.

### **Матерински ефекат фотопериода на цветање и сазревање семена**

Матерински ефекти спољашње средине на цветање потомства описани су код две врсте рода *Plantago*. Матерински ефекат минералног састава подлоге на цветање код *P.major* опстаје кроз 3 генерације (Miao и сар., 1991), док је код *P.lanceolata* (Lacey и Herr, 2000) описан матерински ефекат високих температура на цветање. Матерински ефекат фотопериода на цветање потомства код *C.rubrum* је обрнут у односу на растење (Митровић и сар., 2010). То се могло и очекивати, с обзиром да је цветање процес супротан растењу. Већ је поменуто да у време цветања долази до транзијентног заустављања растења *C.rubrum* (Oratná и сар., 1980; Ulmann и сар., 1980), као и да је растење у индукционим условима инхибирано у односу на растење на неиндукционим (Митровић, 1998). Осим тога, из литературе и праксе је познато да се цветање убрзава у неповољним условима спољашње средине, у циљу обезбеђивања потомства.

Потомство биљака гајених на истом фотопериоду на којем су гајене и мајке биљке (14h/10h) цветало је у истом проценту као њихове мајке. Потомство биљка које у току свог животног циклуса нису искусиле 14h/10h фотопериод, цветале су у вишем проценту и раније у односу на потомство биљака гајених на 14h/10h фотопериоду (Слика 9).

Матерински ефекат фотопериода утиче и на број сазрелих семена по потомачкој биљци (Митровић и сар., 2010). То значи и да матерински ефекат фотопериода опстаје и у следећој генерацији, истовремено потврђујући да матерински ефекти спољашње средине могу опстајати кроз више генерација (Roach и Wulff, 1987). Највећи број семена сазревао је на биљкама чије су мајке гајене на истом 14h/10h фотопериоду (Слика 10), што је истовремено 3 пута више у односу на број семена сакупљених са њихових мајки (Митровић и сар., 2007; Митровић и сар., 2010). Најмањи број семена сазрео је на потомству биљака гајених на 16h/8h фотопериоду (Слика 10), што је истовремено око 30 пута мање у односу на број семена сакупљених са њихових мајки (Митровић и сар., 2007; Митровић и сар., 2010). Укратко, матерински ефекат фотопериода је видљив у способности потомства, гајеног на истом фотопериоду на коме су гајене и мајке биљке, да продукује највећи број семена. Матерински ефекти су предност за потомство које расте на истим условима спољашње средине на којима су расле и мајке биљке (Koller, 1962; Galloway, 2005).

### **Матерински ефекат фотопериода на протеине семена *C. Rubrum***

На основу приказаних података који говоре у прилог чињеници да мајке биљке *C. rubrum* у семену остављају информацију о фотопериодима које су искусиле у току свог животног циклуса, претпоставили смо да би та информација могла бити садржана и видљива у композицији протеина семена (Митровић и сар., 2010).

Укупне концентрације протеина, у узорцима семена сакупљених са биљака гајених на различитим фотопериодима (Митровић, 2007), биле су уједначене (Митровић и сар., 2010). После SDS –PAGE електрофорезе, на гелу је утврђено постојање укупно 33 протеинске траке које су све присутне у сва 4 узорка семена (Слика 11). За 17 од њих је уочена значајна разлика у ширини и интензитету трака у зависности од фотопериода на којима су гајене мајке биљке. Можемо претпоставити да ових 17 протеина семена, финим променама количине у семену, представљају “информацију” о фотопериодима коју су искусиле мајке биљке и коју, у свом смену, остављају потомству. За 12 од њих утврдили смо високе корелације између релативних вредности интензитета и дужина дана којима су мајке биљке биле изложене у различитим фазама развића, или процента клијања (Табела 1). За 4 протеинске траке утврђена је истовремено висока корелација са дужинама дана током индукције цветања мајки биљки и процента клијања. Релативне вредности интензитета протеинских трака чије су Rf вредности 0.44, 0.58, 0.66 и 0.76 су у високој корелацији ( $r = -0.92, 0.87, 0.87$  и  $-0.86$ ) са дужинама дана коју су мајке биљке искусиле током индукције цветања, Rf 0.58, 0.64 и 0.66 ( $r = 0.96, 0.84$  и  $0.95$ ) са дужинама дана које су мајке биљке искусиле током индукције и евокације цветања, и Rf 0.30, 0.36, 0.37, 0.41 и 0.83 ( $r = -0.99, -0.95, 0.88, -0.91$  и  $0.85$ ) са дужинама дана које су мајке биљке искусиле после индукције цветања. Ово указује да релативна композиција протеина семена претставља „архиву“ фотопериода које је мајка биљка искусила током свог живота (Митровић и сар., 2010).

Протеини семена (Rf 0.44, 0.51, 0.76 и 0.91) који показују високу корелацију ( $r = 0.85, 0.94, 0.97$  и  $0.99$ ) са процентом клијања могли би бити укључени у регулацију клијања потомства, као једног од процеса са највећим значајем у онтогенетском развићу биљке (Митровић и сар., 2010). Истовремено, клијање је и први процес у току онтогенезе потомства за који је логично да се дешава “искључиво” под утицајем “информација” које је у семену оставила мајка биљка, пре него што млада јединка може и сопствено “искуство” фактора спољашње средине да “уврсти” у даље растење и развиће (R o a s h и W u l f, 1987). У складу са овим, M a z z a e l l a и сарадници (2005) су показали да се осветљавање семена *Arabidopsis*-а после 5 дана имбибиције у мраку на 5 °C, углавном преко phyB, преноси као информација о спољашњој средини какву ће клијанац највероватније искусити. Односно, семена *Arabidopsis*-а, која захтевају вернализацију да би клијала, могу да приме информације из спољашње средине, и упореде их са “информацијама” које је у семену оставила мајка биљка, већ после 5 дана имбибиције. Високе корелације између релативних вредности интензитета протеинских трака Rf 0.44 и 0.76, истовремено са дужинама дана коју су мајке биљке искусиле током индукције цветања и процентом клијања, указују да је клијање семена регулисано фотопериодом који је мајка биљка искусила током индукције цветања (Митровић и сар., 2010).

Анализа структуре и локализације резервних материја семена *Chenopodium quinoa* (P r e g o и сар., 1998) показала је да су протеинске резерве локализоване углавном у ендосперму и ембриону, као и да је структура семена врло слична не само у оквиру рода *Chenopodium*, већ и у оквиру фамилије *Chenopodiaceae*.

Анализа протеина семена сакупљених са биљака 20 популација *Chenopodium incanum*, показала је већу сличност протеинских трака када су узорци семена узимани са биљака блиских, него географски удаљених, локалитета (C r a w f o r d, 1974). Раздвајањем протеина семена SDS PAGE електрофорезом различитих врста рода *Chenopodium* (B h a r g a v a и сар., 2005) уочена је како разлика у ширинама појединих протеинских трака, тако чак, и присуство односно одсуство појединих трака у узорцима семена исте врсте, сакупљених са удаљених локалитета. Ова истраживања су

спроведена у циљу утврђивања таксономских категорија и порекла и еволуције култивисаних биљака.

Присуство свих протеинских трака (33) у сва 4 узорка *C. rubrum* семена добијених *in vitro* је потврда да су разлике у количинама појединих протеина семена једино последица различитих фотопериода којима су мајке биљке биле излагане током свог животног циклуса (Митровић и сар., 2010).

Показали смо да биљке *Chenopodium rubrum* модификују своје растење и развиће у складу са фотопериодом коме су изложене. Растење до краја онтогенезе, цветање и развиће семена одређени су фотопериодом коме су клијанци изложени током раних фаза реприодуктивног развића – индукције и евокације цветања. Мајке биљке у семену остављају „протеинску информацију“ о дужинама дана које су искусиле у току свог животног циклуса. Матерински ефекат фотопериода протеже се кроз читав животни циклус потомства: фотопериод током индукције цветања мајки биљки има кључни утицај на клијање и растење потомства, док је цветање и доношење семена потомства одређено фотопериодом који су њихове мајке искусиле током индукције и евокације цветања. Матерински ефекат фотопериода опстаје и у другој генерацији.

**Захвалница:** Овај рад је финансиран од стране Министарства просвете и науке Републике Србије (No. [ОИ173017](#)).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bernier, G., J-M. Kinet, R.M. Sachs (1981): The physiology of flowering. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
2. Bertero, H.D., R.W. King, A.J. Hall (1999): Photoperiod-sensitive development phases in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Res.* 60: 231-243.
3. Bewley, J.D., M. Black (1982): Viability, Dormancy, and Environmental control. In: Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination, vol. 2. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp. 60-199. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
4. Bhargava, A., T. S. Rana, S. Shukla, D. Ohri (2005): Seed protein electrophoresis of some cultivated and wild species of *Chenopodium*. *Biol.Plant.* 49: 505-511.
5. Cook, R.E. (1975): The photoindictive control of seed weight in *Chenopodium rubrum* L. *Amer. J. Bot.* 62: 427-431.
6. Crawford, D.J. (1974): Variation in the seed proteins of *Chenopodium incanum*. *Bulletin of the Torrery Botanical Club* 101: 72-77.
7. Cumming, B.G. (1967): Early flowering plants. In: F.H. Will and N.K. Wessels, Thomas Y. Cromwell, (eds.), *Methods in developmental biology.* 277-299, New York.
8. Цветић, Т., С. Будимир, Д. Грубишић (2004): *In vitro* flowering of dark-grown *Centaureum pulchellum*. *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade 56: 21-22.
9. Datta, S.C., M. Evenari, Y. Gutterman (1972): Photoperiodic and temperature responses of plants derived from the various heteroblastic caryopses of *Aegilops* L. *J. Indian Bot. Soc.* 50 A: 546 – 559.
10. Franklin, K.A., G.C. Whitlam (2004): Light signals, phytochromes and cross-talk with other environmental cues. *J. Exp. Bot.* 55(395): 271-276.
11. Gutterman, Y. (2000): Maternal effects on seeds during development. In: CABI Publishing ed. *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities.* 2nd ed. M.Fenner, Wallingford, Oxon. pp. 59-84.
12. Gutterman, Y. (2002): Survival adaptations and strategies of annuals occurring in the Judean and Negev deserts of Israel. *Israel J. Plant Sci.* 50: 165-175.



13. Gutterman, Y., M. Evenari (1972): The influence of day length on seed coat colour, an index of water permeability of the desert annual *Ononis sicula* Guss. *J. Ecol.* 60: 713 – 719.
14. Karssen, C.M. (1970): The light promoted germination of the seeds of *Chenopodium album* L. III. Effect of the photoperiod during growth and development of the plants on the dormancy of the produced seeds. *Acta Botanica Neerlandica* 19: 81 – 94.
15. Keigley, P.J., R.E. Mullen (1986): Changes in soybean seed quality from high temperatures during seed fill and maturation. *Crop Sci.* 26: 1212 – 1216.
16. Koller, D. (1962): Preconditioning of germination in lettuce at time of fruit ripening. *Am. J. Bot.* 49: 841-844.
17. Lacey, E.P., D. Herr (2000): Parental effects in *Plantago lanceolata* L. III Measuring parental temperature effects in the field. *Evolution Int. J. Org. Evol.* 54(4): 1207-1217.
18. Lacey, E.P., S. Smith, A.L. Case (1997): Parental effects on seed mass: seed coat but not embryo/endosperm effects. *Am. J. Bot.* 84(11): 1617.
19. Mazzaella, M. A., M. V. Arana, R. J. Staneloni, S. Perelman, M.J. Rodriguez Batiller, J. Muschetti, P. D. Cerdan, K. Chen, R. A. Sanchez, T. Zhu, J. Chory, J. Casal (2005): Phytochrom control of the *Arabidopsis* transcriptome anticipates seedling exposure to light. *The Plant Cell* 17: 2507-2516.
20. Miao, S.L., F.A. Bazzaz, R.B. Primack (1991): Persistence of maternal nutrient effects in *Plantago major*: the third generation. *Ecology* 72: 1634-1642.
21. Митровић, А. (1998): Цветање краткодневне биљке *Chenopodium rubrum* L. и дугодневне биљке *Chenopodium murale* L. У култури *in vitro*. Магистарска теза. Биолошки факултет, Универзитет у Београду.
22. Mitrović, A., B. Živanović, Lj. Ćulafić (2002): Maternal effect on *Chenopodium rubrum* L. seeds: seed size, germination, growth and flowering *in vitro*. *Ekologija* 37: 53-58.
23. Mitrović, A., Z. Giba, Lj. Ćulafić (2007): The photoperiodic control of growth and development of *Chenopodium rubrum* L. plants *in vitro*. *Archives of biol. Sci., Belgrade* 59: 203-208.
24. Mitrović, A., J. Bogdanović, Z. Giba, Lj. Ćulafić (2010): Effect of photoperiod during growth of *Chenopodium rubrum* mother plants on properties of offspring. *Biol. Plant.* 54: 735-739.
25. Нешковић, М, Р. Коњевић, Љ. Тулафић (2003): Физиологија биљака. ННК-International. 473-525. Београд.
26. Opatrná, J., J. Ullmann, L. Pavlová, J. Krekule (1980): Changes in organ growth of *Chenopodium rubrum* due to suboptimal and multiple photoperiodic cycles with and without flowering effect. *Biol. Plant.* 22: 454-464.
27. Prego, I., S. Maldonado, M. Otegui (1998): Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. *Ann. Bot.* 82: 481-488.
28. Roach, D.A., R.D. Wulff (1987): Maternal effects in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 209-235.
29. Scorza, R. (1982): *In vitro* flowering. *Hort. Rev.* 4: 106-127.
30. Seidlová, F., J. Opatrná (1978): Change of growth correlation in the shoot meristem as the cause of dependence of flowering. *Z. Pflanzenphysiol.* 89: 377-392.
31. Tsuchiya, T., Y. Ishiguri (1981): Role of the quality of light in the photoperiodic flowering response in four latitudinal ecotypes of *Chenopodium rubrum* L. *Plant and Cell Physiol.* 22: 525-532.
32. Ullmann, J., J. Opatrná, J. Krekule, L. Pavlova (1980): The changes in the growth pattern of organs of *Chenopodium rubrum* photoperiodically induced to flowering. *Biol. Plant.* 22: 374-383.

33. Vince-Prue, D. (1975): Photoperiodism in plants. McGraw-Hill Book Company (UK), London.
34. Živanović, B., Lj. Ćulafić, A. Filipović (1995): The effects of hormones and saccharides on growth and flowering of green and herbicides-treated *Chenopodium rubrum* L. plants. *Biol. Plant.* 37: 257-264.

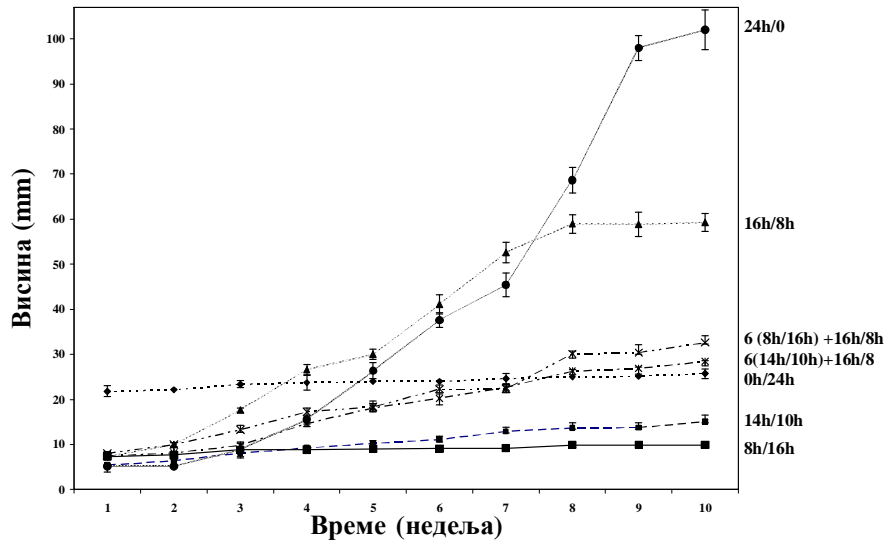
## ПРИЛОГ

Слика 1



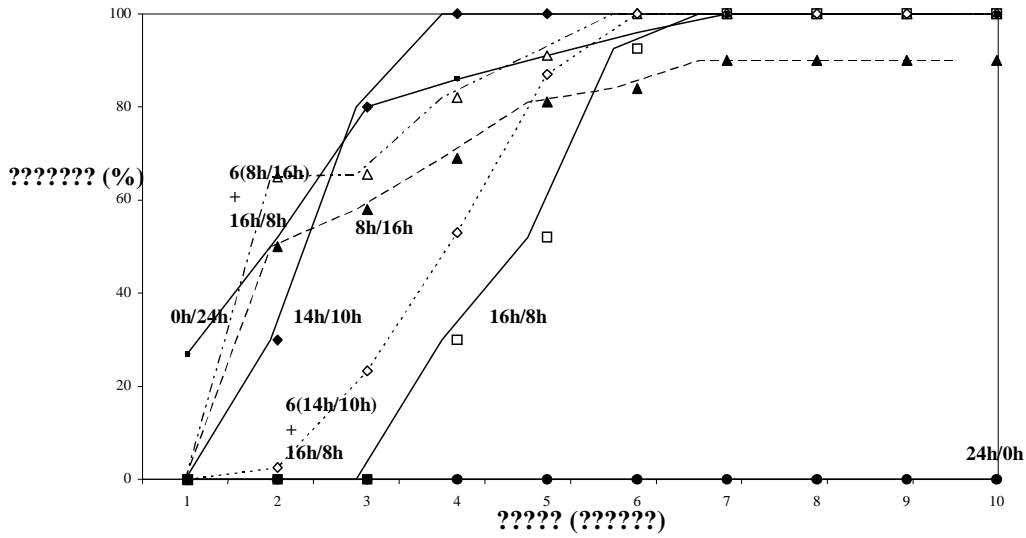
**Слика 1.** Ефекат различитих фотопериода на растење *C.rubrum* током онтогенезе *in vitro*. (измењено из Mitrović et al., 2007)

Слика 2



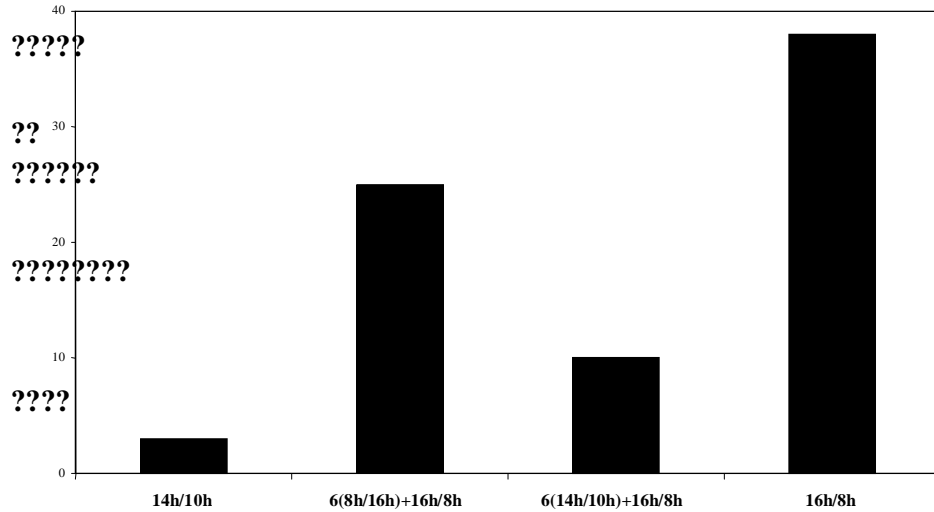
**Слика 2.** Ефекат различитих фотопериода (10 недеља непрекидне светлости – 24h/0h, 10 недеља непрекидног мрака - 0h/24h, 10 недеља 14h/10h фотопериода, 10 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода) на растење *C.rubrum* током онтогенезе *in vitro*; средња вредност  $\pm$  SE, n=48. (измењено из Mitrović и сар., 2007)

Слика 3



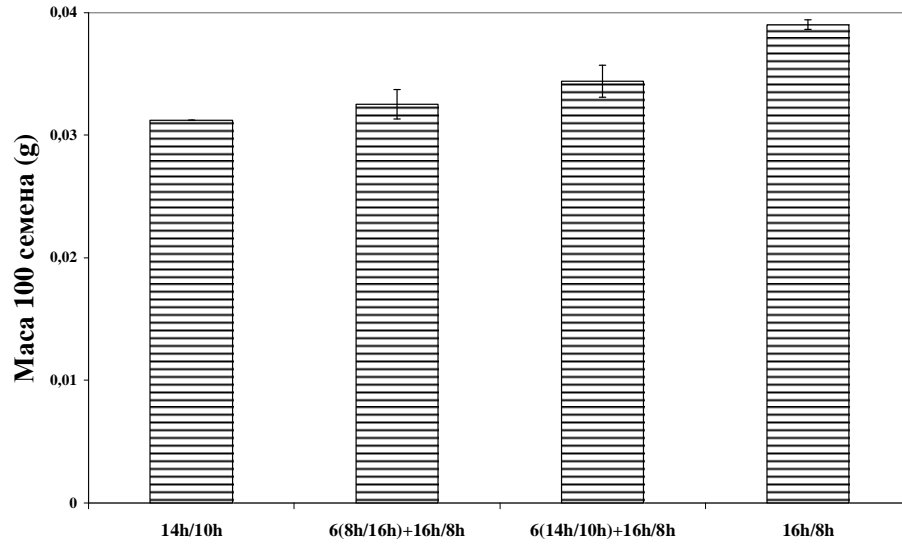
Слика 3. Ефекат различитих фотопериода (10 недеља непрекидне светлости – 24h/0h, 10 недеља непрекидног мрака - 0h/24h, 10 недеља 14h/10h фотопериода, 10 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода) на цветање *C.rubrum in vitro*. (измењено из Mitrović и сар., 2007)

Слика 4

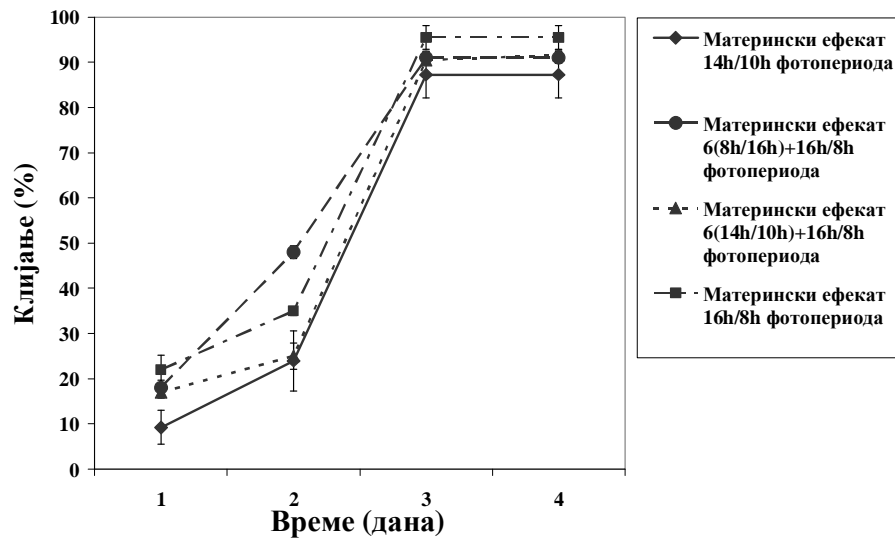


Слика 4. Ефекат различитих фотопериода (10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода) на број сазрелих семена: сазрела семена су сакупљена после 10 недеља гајења биљака *C.rubrum in vitro*. (измењено из Mitrović и сар., 2007)

Слика 5



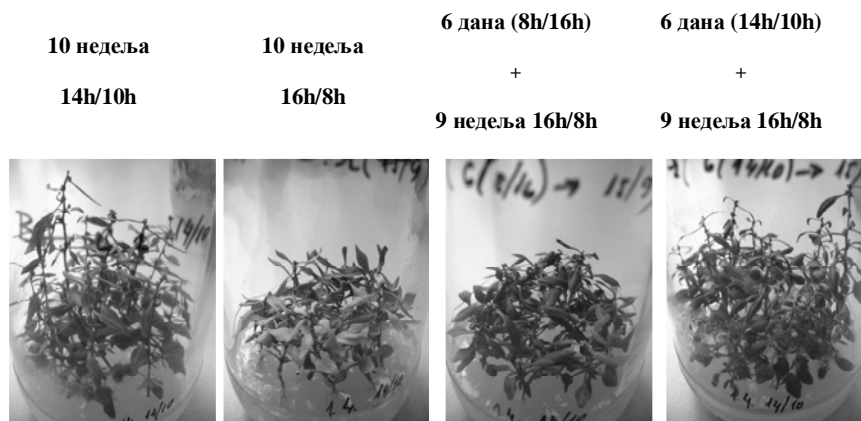
**Слика 5.** Ефекат различитих фотопериода (10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода) на масу семена: семена су сакупљена после 10 недеља гајења биљака *C. rubrum in vitro* и мерена после месец дана сушења на собној температури; средња вредност 4 узорка од по 100 семена  $\pm$  SE. (измењено из Mitrović и сар., 2007)



**Слика 6.** Матерински ефекат различитих фотопериода (10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода) на клијање семена *C. rubrum*; средња вредност  $\pm$  SE, n = 400. (измењено из Mitrović и сар., 2010)

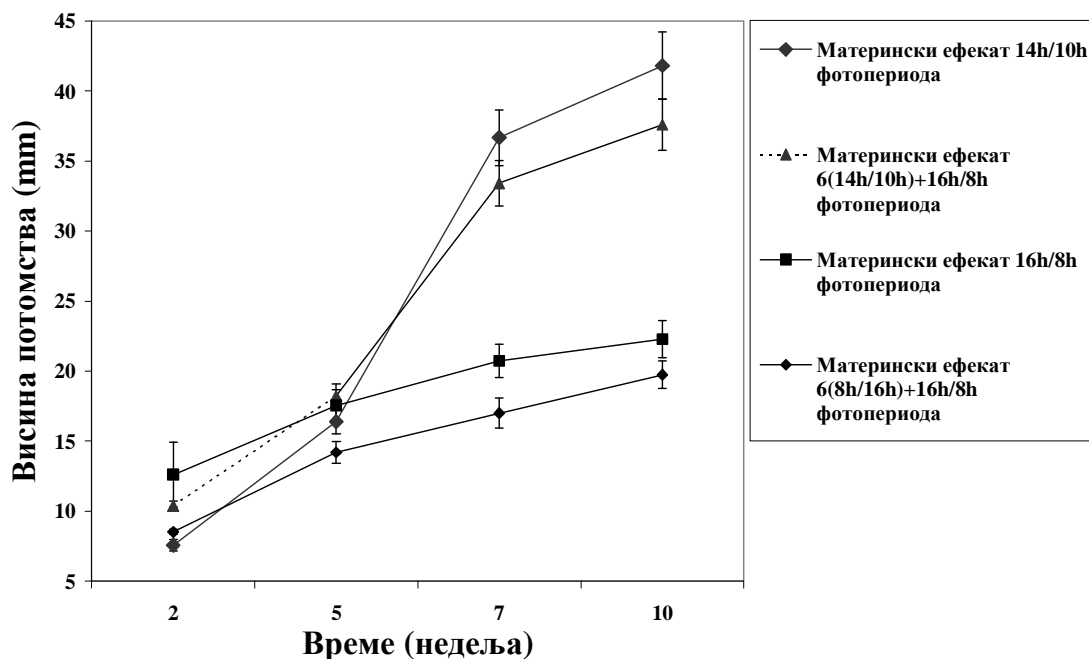
Слика 7

Матерински ефекат фотопериода



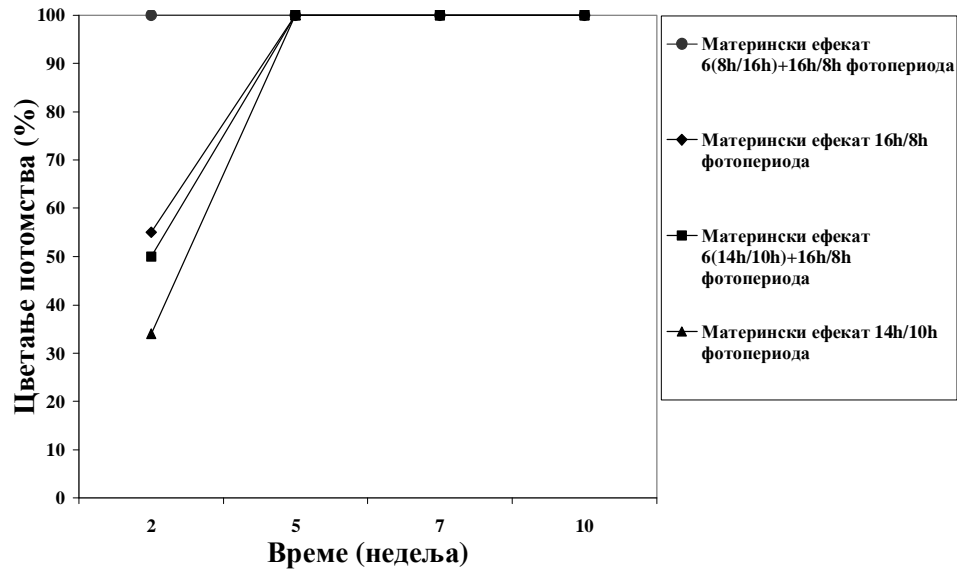
Слика 7. Матерински ефекат различитих фотопериода на висину *C. rubrum* потомачких биљака; биљке потомци су све гајене на истом фотопериоду - 10 недеља на 14h/10h. (измењено из Mitrović и сар., 2010)

Слика 8



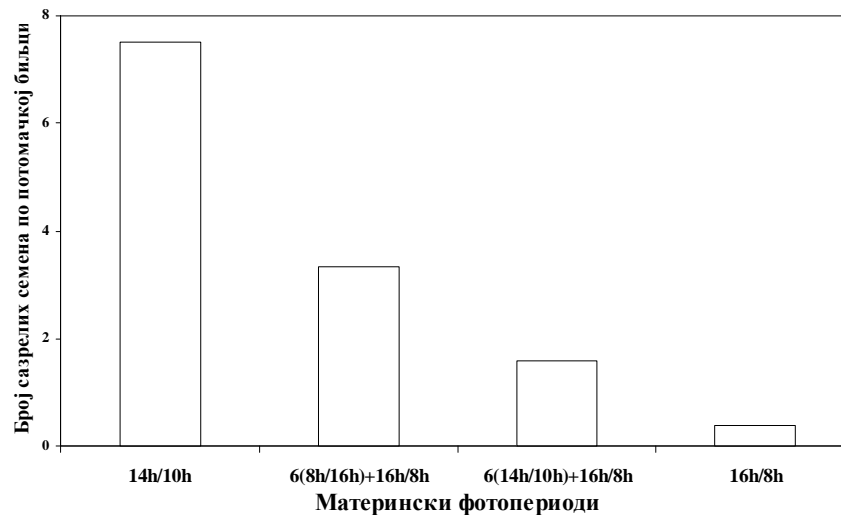
Слика 8. Матерински ефекат различитих фотопериода (10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода) на висину *C. rubrum* потомачких биљака; биљке потомци су све гајене на истом фотопериоду - 10 недеља на 14h/10h; средња вредност  $\pm$  SE, n = 48. (измењено из Mitrović и сар., 2010)

Слика 9



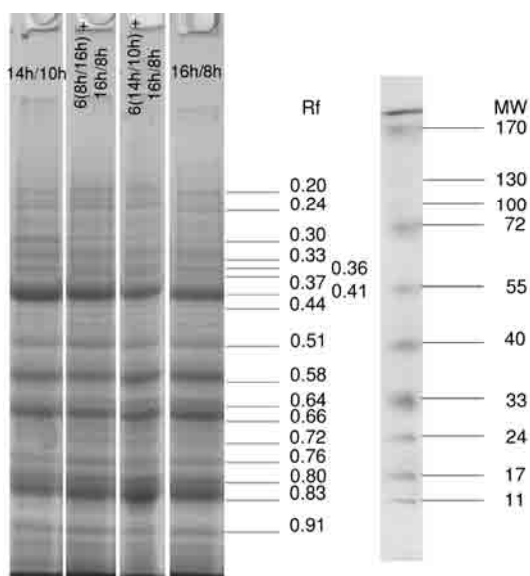
**Слика 9.** Матерински ефекат различитих фотопериода (10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода) на цветање *C. rubrum* потомачких биљака; биљке потомци су све гајене на истом фотопериоду - 10 недеља на 14h/10h; n = 48. (измењено из Mitrović и сар., 2010)

Слика 10



**Слика 10.** Матерински ефекат различитих фотопериода (10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода) на број сазрелих семена *C. rubrum* по потомачкој биљци; биљке потомци су све гајене на истом фотопериоду - 10 недеља на 14h/10h. (измењено из Mitrović и сар., 2010)

Слика 11



**Слика 11.** 10% SDS- PAGE гел протеина семена *C.rubrum* и маркера молекулских маса бојен Coomassie blue. Обележене Rf вредности представљају протеинске траке за које је утврђена разлика у ширини и интензитету (у програму Image Master Totallab 1.11) у узорцима семена сакупљених са биљака гајених на различитим фотопериодима: 10 недеља 14h/10h фотопериода, 6 дана 8h/16h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, 6 дана 14h/10h фотопериода + 9 недеља 16h/8h фотопериода, или 10 недеља 16h/8h фотопериода. (измењено из Mitrović и сар., 2010)

**Табела 1.** Корелације између промена релативних интензитета 12 протеинских трака семена и дужина дана којима су мајке биљке биле изложене током свог животног циклуса, или процента клијања; протеинске траке за које је нађена двострука корелација (са дужинама дана током индукције и евокације цветања и дужинама дана током индукције цветања и процента клијања) су подвучене.

Протеини семена Rf =	Дужина дана којој су биле изложене мајке биљке	Корелација r =
<u>0.44</u>	током индукције цветања (првих 6 дана после клијања) 14h, 8h, 14h, 16h	<u>-0.92</u>
<u>0.58</u>		<u>0.87</u>
<u>0.66</u>		<u>0.87</u>
<u>0.76</u>		<u>-0.86</u>
<u>0.58</u>	током индукције и евокације цветања (првих 12 дана после клијања) 14h, ( $\frac{8h + 16h}{2}$ ), ( $\frac{14h + 16h}{2}$ ), 16h	<u>0.96</u>
0.64		0.84
<u>0.66</u>		<u>0.95</u>
0.30	после индукције цветања	-0.99

0.36	14h, 16h, 16h, 16h	-0.95
0.37		0.88
0.41		-0.91
0.83		0.85
<b>Клијање</b>		
<u>0.44</u>	процент клијања (2. дана)	<u>0.85</u>
0.51		0.94
<u>0.76</u>		<u>0.97</u>
0.91		0.99

Примљено: 27. 12. 2010.  
Одобрено: 21. 07. 2011.