УДК 581.5, 581.1 DOI: 10.25808/08697698.2020.209.1.001

Ю.Н. КУЛЬЧИН, В.П. БУЛГАКОВ, Д.О. ГОЛЬЦОВА, Е.П. СУББОТИН

Оптогенетика растений – светорегуляция генетического и эпигенического механизмов управления онтогенезом

Подбор стратегии освещения растений позволяет контролировать их развитие и стимулировать раскрытие их генетического, продукционного, фотосинтетического потенциала. В статье рассматриваются вопросы световой регуляции генетической системы растений и светового управления морфогенезом. Дано представление о механизмах трансляции светового сигнала в клетке. Показана взаимосвязь между фоторецепторными белками и эндогенными программами развития растений. Охарактеризована роль пигментных белков и фитогормонов в процессах регуляции онтогенеза растений. Приведены экспериментальные результаты, демонстрирующие световое управление морфогенезом растений. Обоснована необходимость развития нового междисциплинарного, с большой инновационной компонентой, научного направления – оптогенетика растений, задачей которого должно стать определение процессов и путей управляющего действия света на генетический потенциал растений.

Ключевые слова: оптогенетика растений, свет, спектр излучения, пигментные белки, фитогормоны, онтогенез растений.

Plant optogenetics – photoregulation of genetic and epigenetic mechanisms of ontogenesis control.

Yu.N. KULCHIN[1, 3], V.P. BULGAKOV[2], D.O. GOLTSOVA[1], E.P. SUBBOTIN[1] ([1]Institute of Automation and Control Processes, FEB RAS, Vladivostok, [2]Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok, [3]Far Eastern Federal University, Vladivostok).

Selection of lighting strategy of plants allows controlling their development and stimulating the disclosure of their genetic productive and photosynthetic potential. The purpose of this article is to consider the issues of light regulation of the plant genetic system and light control of morphogenesis. The idea of the mechanisms of light signal translation in the cell is given. The relationship between photoreceptor proteins and endogenous programs of plant development is shown. The role of pigment proteins and phytohormones in the regulation of plant ontogenesis is characterized. Experimental results demonstrating light control of plant morphogenesis are presented. It is concluded that it is necessary to develop a new interdisciplinary scientific direction, with a large innovative component, – plant optogenetics, whose task should be to determine the processes and ways of controlling the action of light on the plant genetic potential.

Key words: plant optogenetics, light, emission spectrum, pigment proteins, plant hormones, plant ontogenesis.

*КУЛЬЧИН Юрий Николаевич – академик РАН, доктор физико-математических наук, научный руководитель (Институт автоматики и процессов управления ДВО РАН, Владивосток), профессор (Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), ГОЛЬЦОВА Дарья Олеговна – младший научный сотрудник, СУББОТИН Евгений Петрович – кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник (Институт автоматики и процессов управления ДВО РАН, Владивосток), БУЛГАКОВ Виктор Павлович – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заведующий отделом (Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток). *E-mail: kulchin@iacp.dvo.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение от 02.12.2019 г. № 05.604.21.0229, уникальный идентификатор проекта – RFMEFI60419X0229).

Введение

В связи с ужесточением экологических и фитосанитарных требований потенциал развития сельского хозяйства, основанный на генетической модификации культур растений и широкомасштабном применении химических средств, в значительной мере исчерпан. Одной из современных тенденций в направлении биологизации сельского хозяйства и повышения урожайности сельскохозяйственных культур являются максимальное раскрытие генетических особенностей и продукционного потенциала, а также индукция иммунитета растений посредством воздействия на них различными средствами как биогенного, так и абиогенного характера.

Солнечный свет – важный адаптационный стимул, и многие живые организмы приспосабливают свой метаболизм к условиям изменяемой освещенности в окружающей среде, воспринимая световые сигналы и реагируя на них изменением своих физиологических функций. В частности, растения ведут прикрепленный образ жизни и постоянно находятся под воздействием большого числа внешних факторов, среди которых определяющую роль играет свет, так как он служит и источником энергии для фотосинтеза, и сигналом, участвующим в регуляции жизнедеятельности растений. Свет чрезвычайно важен для реализации соответствующих программ развития растений (деэтиоляции, фотоморфогенеза, фотопериодизма, фототропизма и др.) [6]. При этом свет выступает многогранным фактором, характеризующимся качественными (диапазоном длин волн) и количественными (интенсивностью, интегральной суточной радиацией, фотопериодом) параметрами, а также направлением и поляризацией. Ниже приведены характеристики влияния разных спектров светового излучения на развитие растений [30].

Спектр излучения, нм	**Роль спектра излучения в развитии растений**
280–320	Необходим для нормального развития некоторых видов растений
320–400	Выполняет регуляторную роль в развитии растений
400–500, синий	Имеет ярко выраженное регуляторное действие, необходим для обеспечения высокого уровня фотосинтеза
500–600, желто-зеленый	Обладает регуляторным действием
600–700, красный	Имеет ярко выраженное регуляторное действие, необходим для обеспечения высокого уровня фотосинтеза
700–750, дальний красный	Имеет ярко выраженное регуляторное действие
750–1050, ближнее ИК-излучение	Роль в жизни растений минимальна
>1050, среднее и дальнее ИК-излучение	Важен для обеспечения теплового режима растений, в связи с чем играет регуляторную роль в обменных процессах

Как правило, основная причина низкой продуктивности растущих в естественных условиях растений заключается в том, что громадное количество поступающей от Солнца энергии обесценивается как фактор фотосинтеза вследствие неблагоприятных сочетаний параметров освещения с другими условиями продуктивности: теплом, влажностью и условиями почвенного плодородия [25]. Учитывая, что свет контролирует функционирование систем эндогенной регуляции (генной, ферментативной, трофической, гормональной и т.п.), совокупное действие которых обеспечивает адекватную реакцию растений на условия освещения, мы можем попытаться, манипулируя характеристиками освещения,

максимально раскрыть потенциал, определяемый генетическим планом растения. Тем самым, используя различные части спектра, мы можем задавать растению входные данные, или «инструкции», которые приведут к предсказуемым биохимическим событиям и ощутимым практическим результатам, которыми можно управлять. Наблюдаемые эффекты управления морфогенезом растений, основанные на использовании различных спектров освещения, в некотором смысле родственны генной модификации, но при этом не изменяют самого генофонда растения [8].

Идея использования разных спектральных компонент света для управления развитием растений не нова. Но чтобы понять, почему этот подход возможен, необходимо знать, как формируются отклики растений в результате экспрессии разных генов под воздействием света. Эти исследования представляют огромный интерес, так как открывают возможность максимального раскрытия генетического потенциала культур растений без генетической модификации или увеличения использования химических веществ. Цель настоящей работы заключается в рассмотрении вопросов, связанных со световым управлением морфогенезом растений, которые уже имеют в своем составе заложенные природой разнообразные светочувствительные сигнальные компоненты.

Пигментные белки в онтогенезе растений

Для того чтобы свет мог оказывать влияние на растительные организмы и, в частности, использоваться в процессе фотосинтеза, необходимо его поглощение фоточувствительными белками (антеннами) – пигментами. Пигменты – это окрашенные вещества, цвет которых определяется наличием в их молекулах хромофорных групп [1], обусловливающих избирательное поглощение света. Пигменты играют важную и разнообразную роль в жизнедеятельности организмов, особенно в протекающих в них фотобиологических процессах.

Главный фотобиологический процесс – фотосинтез, в ходе которого энергия электромагнитного излучения превращается в химическую энергию органических соединений. Сначала свет поглощается молекулами пигментов в светособирающей антенне, затем энергия возбуждения передается реакционному центру, который содержит хлорофилл. В реакционном центре происходит первичная фотохимическая реакция – разделение зарядов. Энергию света, запасаемую при разделении зарядов, растение использует для осуществления реакций электронного транспорта, которые дают энергию для синтеза устойчивых высокоэнергетических соединений (АТФ, НАДФН+Н, углеводов) [33].

Набор, состав и соотношение пигментов специфичны для различных групп организмов и во многом зависят от среды их обитания [2]. Пигменты фотосинтеза у высших растений сконцентрированы в пластидах. Их можно разделить на четыре группы: хлорофиллы, каротиноиды, фикобилины и флавоноиды [4, 33].

Важнейшую роль в процессе фотосинтеза играют зеленые пигменты – хлорофиллы [38]. Известно около десяти типов хлорофиллов. Они отличаются по химическому строению и окраске. У всех высших растений содержатся хлорофиллы *a* и *b.* По химическому строению они представляют собой сложные эфиры дикарбоновой органической кислоты – хлорофиллина и двух остатков спиртов – фитола и метилового. Хлорофилл *a* в растворе имеет максимум поглощения на длинах волн 440 и 700 нм, а хлорофилл *b* – на длинах волн 460 и 660 нм. Однако есть формы хлорофилла, поглощающие свет с длиной волны 642, 710 и даже 720 нм. Синтез хлорофилла – многоэтапный процесс с участием различных ферментов, образование которых ускоряется на свету. При исследовании влияния света на образование хлорофилла в большинстве случаев проявилась положительная роль красного света. Большое значение имеет также интенсивность освещения. Существуют нижний и верхний пределы освещенности, начиная с которых образование хлорофилла тормозится.

Наряду с зелеными пигментами в хлоропластах и хроматофорах содержатся пигменты, относящиеся к группе каротиноидов. Каротиноиды – это желтые и оранжевые пигменты алифатического строения (производные изопрена). Они присутствуют у всех высших растений и у многих микроорганизмов [19]. Каротиноиды, содержащие кислород, получили название ксантофиллы. Основными представителями каротиноидов у высших растений являются два пигмента – β-каротин (оранжевый) и ксантофилл (желтый). β-каротин имеет два максимума поглощения, соответствующие длинам волн 452 и 482 нм. Каротиноиды принимают участие в процессе фотосинтеза. Установлено, что каротиноиды, поглощая определенные участки солнечного спектра, передают энергию этих лучей на молекулы хлорофилла и тем самым способствуют использованию спектрального диапазона света, который хлорофиллом не поглощается. Физиологическая роль каротиноидов не ограничивается их участием в передаче энергии на молекулы хлорофилла. Имеются данные, что каротиноиды выполняют защитную функцию, предохраняя различные органические вещества клеток растений, в первую очередь молекулы хлорофилла, от разрушения на свету в процессе фотоокисления. При формировании листьев каротиноиды образуются и накапливаются в пластидах и не требуют света при синтезе.

Фикобилины – красные и синие пигменты, присутствующие у цианобактерий и некоторых водорослей [16]. Они представлены следующими пигментами: фикоцианином, фикоэритрином и аллофикоцианином. Фикобилины поглощают лучи в зеленой и желтой частях спектра светового излучения. Это та часть спектра, которая находится между двумя основными линиями поглощения хлорофилла. Фикоэритрин поглощает лучи с длиной волны 495–565 нм, а фикоцианин – 550–615 нм. Считается, что фикобилины поглощают энергию света и, подобно каротиноидам, передают ее на молекулу хлорофилла, после чего она используется в процессе фотосинтеза.

Флавоноиды – крупнейший класс растительных пигментов, находящихся в виде гликозидов в соке растений. К ним относят антоцианы, антоцианидины, ауроны, дигидрохалконы, изофлавоны, катехины, лейкоантоцианидины, флавононолы, флавоны, флаваноны, флавонолы и халконы. В зависимости от РН среды флавоноиды имеют красную, желтую, синюю и фиолетовую окраску. Они принимают участие в фотосинтезе, образовании лигнина, вовлечены в регуляцию процессов прорастания семян, пролиферации и отмирания (путем апоптоза) клеток [20, 35].

Известно, что успешная закладка генеративных структур и вызревание плодов, семян и других хозяйственно ценных органов культурных растений во многом зависят от регуляции этих процессов, в которых задействовано множество генных комплексов. В настоящее время ясно, что размер и стабильность антенн фотосинтетического аппарата важны не только для фотосинтетической функции, но и для осуществления регуляторных сигналов, распространяющихся за пределы хлоропластов клеток растений [31].

В ходе онтогенеза клетки растений должны эффективно координировать активность двух геномов – ядерного и пластидного. Такая координация оказывается возможной благодаря существованию двух противоположно направленных процессов. С одной стороны, это ядерный контроль над экспрессией генома хлоропластов, с другой – это обратная регуляция, направленная от хлоропластов к ядру, несущая информацию о состоянии и функционировании этих органелл в данных конкретных условиях и обеспечивающая таким образом обратную связь между цитоплазмой и ядром. В данном случае при изменении спектрального состава или интенсивности освещения меняются стехиометрический состав белков светособирающих комплексов хлоропластов, а также интенсивность процессов биосинтеза хлорофиллов, каротиноидов, фикобилинов и флавоноидов. Практически все вовлеченные в осуществление этих процессов белки кодируются в ядре. В связи с этим информация об изменении спектрального состава или интенсивности освещения должна поступать в ядро от хлоропластов и приводить к изменению экспрессии соответствующих ядерных генов. Конкретные механизмы генерации и передачи пластидно-ядерных сигналов у растений изучены на сегодняшний день недостаточно. Считается, что такими

сигналами являются активные формы кислорода, генерируемые при участии связанных с пластидами белков, которые посредством ряда каскадов с участием более стабильных форм соединений обеспечивают передачу информации через цитоплазму в ядро [37, 46]

Фотоморфогенез растений

Рост и развитие растений контролируются генетическими детерминантами, продуктами их экспрессии и сигналами внешней среды. Свет относится к числу главных внешних факторов, оказывающих наибольшее влияние на морфогенетические процессы в клетках растений. Физиологические эффекты световых сигналов в растениях весьма дифференцированы: свет является уникальным источником энергии, обеспечивающим фотосинтез, но он также оказывает мощное стимулирующее влияние на морфогенез растений [6]. Фоторецепция – важнейшая функция, необходимая растениям для приспособления к условиям освещения и другим параметрам среды, ибо свет служит для них синхронизатором суточных и сезонных биоритмов, а также источником специфической сигнальной информации [32]. При этом на фоторегуляцию развития растений требуется в 100–1000 раз меньше энергии, чем на фотосинтез. Морфогенез растений, который управляется параметрами освещения (его наличием или отсутствием, интенсивностью, спектром, поляризацией, направлением, временем и длительностью действия, динамикой изменения и пр.), называется фотоморфогенезом [28].

На сегодняшний день общепринятыми считаются несколько механизмов регуляторного влияния света на растения, действие которых может носить как изолированный, так и совместный характер [46]:

1) непосредственное действие светового излучения на генетический аппарат растений через возбуждение фоторецепторов, которое способствует синтезу необходимых белков;

2) эндогенная регуляция, проявляющаяся через возбуждение светом фоторецепторов активности фитогормонов, которые являются одними из ближайших к фотохромным белкам звеньев регуляторной системы в клетках растений;

3) влияние света на функциональную активность клеточных мембран, осуществляемое через изменение электрических характеристик мембран клеток и тканей облучаемых светом органов растений, что вызывает определенные физиологические эффекты: новообразование фитогормонов и активацию некоторых генов.

Вследствие эволюционной адаптации к изменяющимся и экстремальным условиям освещенности растения имеют усложненную специализированную фоторецепторную сеть. У растений с наиболее развитой системой рецепции света, ответственной за реализацию разнообразных фотоответов, функционирует несколько типов регуляторных фоторецепторных белков (фоторецепторов), спектральная чувствительность которых позволяет использовать для управления морфогенезом практически все области оптического спектра. К ним относятся фитохромы – сенсоры красного (R) и дальнего красного (FR) света (600–750 нм), криптохромы и фототропины – рецепторы ближнего ультрафиолетового (UV-A) и синего (B) света (320–500 нм), а также белок *UVR8* – рецептор фотонов дальней ультрафиолетовой (UV-B) области спектра (290–320 нм) [62].

Экспрессия светорегулируемых генов у растений контролируется различными классами фоторецепторов [41, 49], которые трансформируют световые сигналы в биохимические сигнальные каскады, вызывающие физиологические клеточные ответы. Сенсорами фотонов у фоторецепторных белков служат молекулы хромофоров, фотопревращение которых инициирует структурные изменения в фотосенсорном домене с последующей трансдукцией сигнала к эффекторным доменам фоторецепторов или взаимодействующим белкам, вызывая модуляцию их активности.

Таким образом, основой фотоморфогенеза растений является детектирование специальными фоточувствительными образованиями – фоторецепторными белками

Рис. 1. Предполагаемая схема процесса фотоморфогенеза у растений

(фоторецепторами) – наличия или отсутствия световой энергии заданной интенсивности в заданном диапазоне длин волн. Предполагается, что световые сигналы, принятые фоторецепторами, должны быть преобразованы и далее должны передаваться через фоторегуляторные системы, вызывая экспрессию генов, что в конечном итоге приводит к физиологическому ответу. Доказано, что растительные гормоны через систему фоторецепции также вовлечены в реакцию на свет. В результате при обнаружении заданных изменений параметров света фоторецептор запускает цепочку биохимических процессов, активирующих в конечном итоге требуемую реакцию организма растения (рис. 1).

Взаимосвязь между фоторецепторными белками и эндогенными программами развития растений заключается в их влиянии на рост и развитие клеток, которое проявляется в регуляции движения хлоропластов, изменении проницаемости мембран, синтезе ферментов и фитогормонов. При этом предполагается, что поглощенный квант (или несколько квантов) света переводит фоторецепторный белок в активную форму. В дальнейшем генерируется некий сигнал, поступающий в ядро клетки к ДНК, который дерепрессирует потенциально активный ген, приводя его в активное состояние, в результате чего происходит переключение в матричном синтезе информационной РНК (иРНК) и белков.

Гены фитохромов находятся в ядерной ДНК. Поэтому экспрессия генов осуществляется в ядре, а синтез белков фитохромов – в цитоплазматических рибосомах. Фитохромобилин (хромофор фитохрома) синтезируется в пластидах, а уже потом поступает в цитоплазму. В цитоплазме происходит автокаталитическое ковалентное присоединение хромофора к белку фитохрома. В результатке образуется функционально активная молекула фитохрома [17].

Таким образом, между сигнальными системами и геномом растений существует двусторонняя связь: с одной стороны, белки сигнальных систем закодированы в геноме, с другой – сигнальные системы управляют геномом, экспрессируя или подавляя активность других генов. Поэтому исследования, связанные с изучением сигнальных систем растений, интенсивно развиваются [8].

Фитогормональная регуляция онтогенеза растений

Синтезируемые в клетках растений фитогормоны – низкомолекулярные органические вещества, вырабатываемые растениями и имеющие регуляторные функции. Действующими являются низкие концентрации фитогормонов (~10^{-10}–10^{-5} моль/л). При этом фитогормоны вызывают различные физиологические и морфологические изменения в чувствительных к их действию частях растений. Вещества, традиционно считающиеся фитогормонами, – ауксины, гиббереллины, цитокинины, этилен, брассиностероиды и абсцизовая кислота. Часто к ним добавляют жасмоновую, салициловую кислоты и некоторые фенольные соединения [10, 34].

В отличие от животных, растения не имеют специальных органов, синтезирующих гормоны. Вместе с тем отмечается бóльшая насыщенность гормонами некоторых их органов по сравнению с другими. Например, ауксинами обогащены верхушечные меристемы стебля и апикальная часть корня [9], абсцизины обычно действуют в точке синтеза, распространяясь лишь на небольшое расстояние, а этилен транспортируется только в виде предшественника [24].

Фитогормоны обладают широким спектром действия и осуществляют координацию между отдельными клетками и тканями растений. Они регулируют многие процессы жизнедеятельности растений: прорастание семян, рост, дифференциацию тканей и органов, цветение и созревание плодов. Образуясь в одном органе (или его части) растения, фитогормоны обычно транспортируются в другой орган (или его часть). Экзогенные фитогормоны проникают в растения достаточно равномерно, а эндогенные локализуются в отдельных депо клеток. Поэтому гормональная «подкормка» растений извне не заменяет естественный синтез фитогормонов и способна помочь растениям только в определенных условиях, в связи с чем необходимо развитие управляемого процесса синтеза фитогормонов.

Фитогормональное регуляторное воздействие на рост и развитие растений достигается двумя путями: изменением дозы фитогормона и взаимодействием фитогормонов. В зависимости от концентрации фитогормона его действие на один и тот же процесс может изменяться от стимуляции до ингибирования. Кроме того, изменение его концентрации может привести и к изменению характера действия фитогормона и физиологического ответа [23].

Согласно современным представлениям, регуляторное воздействие фитогормонов обусловлено тем, что они регулируют экспрессию генов в растении [18], при этом действуют на разных уровнях. Фитогормоны взаимодействуют в растительной клетке с белками-рецепторами и образуют своеобразный гормон-рецепторный комплекс, который далее проникает в ядро и вступает в контакт с хроматином. Рецепторы располагаются как на мембранах, так и в цитозоле. Поэтому один и тот же гормон может связываться с разными рецепторами, тем самым вызывая различные ответные физиологические реакции. Именно это является одной из причин многоуровневости действия фитогормонов. На первом уровне прямое взаимодействие фитогормона с ДНК изменяет структурное состояние хроматина и тем самым влияет на его матричную активность. Второй возможный уровень воздействия фитогормонов связан с реализацией наследственной информации посредством их влияния на специфические ферменты РНК-полимеразы, способные «узнавать» определенные гены и синтезировать гигантские молекулы – предшественники информационной РНК (пре-иРНК). При этом фитогормоны могут регулировать время жизни мРНК, а также процесс ее поступления в цитоплазму. Фитогормональная регуляция экспрессии генов возможна и на уровне трансляции – синтеза белка в рибосомах (третий уровень).

Таким образом, фитогормоны не только регулируют рост и развитие клетки, но и являются надклеточными механизмами регуляции. Способы регуляции могут быть разными: одни фитогормоны могут понизить экспрессию целевого гена, другие, наоборот, могут его активировать. Поэтому между фитогормонами возникают конкурентные отношения. Образование и накопление одного гормона вместо другого приводит к изменению характера ростовых процессов. Кроме того, один гормон может стимулировать или ингибировать синтез другого гормона.

Наряду с дифференциальным действием на активность генома большое значение имеет влияние фитогормонов на регуляцию проницаемости клеточных мембран. В результате связи фитогормона с рецептором мембраны изменяется мембранный потенциал, что приводит к активации функциональной системы клетки, вследствие чего происходит активация/инактивация соответствующих генов [21, 24, 26].

Гормональная система на каждом этапе развития растения характеризуется определенным статусом: состоянием фитогормональной системы в онтогенезе растения, уровнем концентрации и соотношением между фитогормонами в процессах их образования, передвижения, использования и инактивации в ответ на внешние воздействия [36]. Гормональный статус зависит от биологии растения, этапа онтогенеза, условий внешней среды. Он может быть изменен воздействием экзогенных факторов (различных технологических приемов, изменяющих условия роста). Исходя из этого, можно предположить, что наиболее перспективный способ изменения гормонального статуса растений, а следовательно, и регуляции онтогенеза – воздействие на растения экзогенными факторами, одним из которых является свет.

Световая регуляция морфогенеза растений

Специфический ответ клетки на световой сигнал предполагает, что: 1) разные клетки в одном организме отвечают на стимул неодинаково; 2) одна и та же клетка реагирует на разные стимулы по-разному. Это достигается за счет того, что в ядре экспрессируется разный набор мРНК, а в клетке вырабатываются новые белки, что позволяет развивать адекватную реакцию на стимул. Поэтому восприятие светового сигнала зависит от состояния, в котором находилась клетка перед его получением [6]. В качестве отдельных механизмов реализации светового воздействия в растениях выступают общие неспецифические физиолого-биохимические реакции, результатом которых являются сдвиги в гормональном балансе, вносящие свой вклад в изменение структуры и функции клеток и способствующие переключению их функциональной активности, а также изменению донорно-акцепторных отношений между ними [34].

В настоящее время активно формируется представление о механизмах трансляции светового сигнала в клетке. Считают, что после поглощения кванта света трансформированный световой сигнал транслируется по компонентам сети на уровне мембран, цитозоля и генома. Восприятие светового сигнала фоторецептором сопряжено с изменениями ионных потоков через клеточные мембраны, фосфорилированием мембранных белков, активацией цитозольных компонентов, экспрессией генов *COP*, *DET*, *FUS*, продукты которых участвуют в регуляции морфогенеза [11, 56, 67]. В этом случае рецепторами называют участки мембраны клеток, чувствительные к определенным веществам и передающие информацию о таком сигнале внутрь клетки. Фактически мембранные рецепторы – это особые молекулы белка, способные опознавать молекулы определенных соединений: белков, пептидов, низкомолекулярных гормонов и других веществ.

В большинстве случаев соединение рецептора с сигнальной молекулой активирует специальный фермент. Рецепторы устроены так, что опознаваемые ими молекулы или части этих молекул способны входить в рецепторы, как ключ в замочную скважину. При этом состояние и деятельность клетки меняются.

В последние годы получены данные о том, что в клетках растений и животных многочисленные белки семейства митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) причастны к передаче различных типов сигналов из окружающей среды (ERK-типы МАРК) и от фитогормонов. Сеть серин/треониновых протеинкиназ в клетках растений является универсальным механизмом передачи сигналов и функционирует как единый центральный процессор: принимает и обрабатывает информацию, поступающую от чувствительных к сигналам окружающей среды рецепторов, таких как свет, изменение температуры, гравитация, атаки микробов или осмотический дисбаланс, а также фитогормоны, – и далее, на основании этой информации, вызывает изменения в экспрессии генов, делении, метаболизме и росте клеток, способствуя таким образом адаптации растений к условиям окружающей среды [39, 50, 61, 63].

Фотоморфогенетическое воздействие света на растение реализуется через регуляторные фоторецепторы, которые состоят из поглощающего свет пигмента (хромофора), связанного с молекулой белка-эффектора (апопротеина). Поглощение света хромофором вызывает изменение окислительно-восстановительного потенциала или конформационного состояния апопротеина рецептора, которое запускает трансдукцию светового сигнала через цепь вторичных посредников. Среди них выделяют четыре типа фоторецепторов: фоторецепторы синей и ближней ультрафиолетовой областей спектра (B и UV-A) – криптохромы *Cry1*, *Cry2* и *Cry3* [55]; фоторецепторы синей части спектра (B) – фототропины *Phot1* и *Phot2* [53, 64]; фоторецепторы ближнего красного и дальнего красного спектров излучения (R и FR) – фитохромы *PhyA–PhyE* [48]; фоторецептор ультрафиолетового излучения (UV-B) [75].

В настоящее время относительно хорошо изучено действие фоторецепторов красного и синего света.

Наиболее изучена фитохромная система регуляции, включаемая ближней и дальней красной областями спектра излучения [14, 15, 44, 54, 65, 68]. Фитохром обнаружен у всех зеленых растений, даже у синезеленых водорослей. К реакциям, регулируемым фитохромной системой, относятся такие, как ингибирование роста стебля, открытие гипокотиля, развертывание семядолей, дифференциация эпидермиса и устьиц, образование элементов ксилемы, ориентация хлоропластов, фотопериодическая реакция растения и др.

Заметим, что, в отличие от гена фитохрома-А (*PhyA*), гены фитогормонов (*PhyB–PhyE*) экспрессируются с меньшей активностью, но их мРНК и белки имеют бóльшую стабильность. Поэтому в темноте в этиолированных проростках преобладает фитохром-А, а на свету – фитохром-В, который принимает участие в фитохромных реакциях растения в процессе их развития в условиях освещения.

Принцип действия фитохромов основан на их фотоконверсии между двумя взаимопревращающимися формами – $PhyB_{FR}$, поглощающей ближний красный свет (со спектральным максимумом поглощения 660 нм), и $PhyB_R$, поглощающей дальний красный свет (со спектральным максимумом поглощения 740 нм). Конверсия $PhyB_R$–$PhyB_{FR}$ связана с обратимой Z/E-фотоизомеризацией билиновых хромофоров под воздействием соответствующего излучения. При определенных условиях освещенности существует динамическое равновесие между основными формами фитохрома, так как спектры поглощения для $PhyB_R$ и $PhyB_{FR}$ имеют перекрывающиеся участки в красной, дальней красной и синей областях. На протяжении большей части дня соотношение энергии красных и дальних красных лучей составляет 3 : 1, что благоприятствует превращению пассивного $PhyB_R$ в активный $PhyB_{FR}$. В темноте преобладает $PhyB_R$, поскольку фитохром синтезируется в клетках растений именно в этой форме.

Конкретная природа хромофоров разных субсемейств фитохромов неодинакова. Например, растительные и цианобактериальные фитохромы встраивают фитохромобилин (PHYB) и фикоцианобилин (PCB), а фитохромы неоксигенных фототрофных и нефотосинтезирующих бактерий, а также грибов – биливердин IXa (BV) [73]. Локализованные в ядре фитохромы связаны со специфическими белковыми комплексами, названными фототелами. Размер и распределение этих структур регулируются интенсивностью и продолжительностью освещения, и они включаются в подстройку передачи сигналов фитохрома [58].

При освещении ближним красным светом (R) экспортированный в ядро активный конформер $PhyB_R$ физически взаимодействует с регулятором транскрипции PIF6, обусловливая уменьшение накопления транскрипционных факторов в клетке, сопровождающееся изменением транскрипции определенных генов и началом светового управления. Предполагаемая схема такого управляющего воздействия светового излучения на геномную подсистему клетки растения через фоторецепторный белок фитохрома проиллюстрирована на рис. 2.

В данном случае ближняя красная подсветка (660 нм) преобразует неактивный белок $PhyB_R$ в активную форму $PhyB_{FR}$ и вызывает его гетеродимеризацию с помощью регулятора транскрипции PIF6, присоединенного через ДНК-связывающий домен (BD) к сайту оператора. *PhyB,* слитый с доменом активации (AD), рекрутирует комплекс инициации транскрипции PolII и запускает активацию минимального промотора (Pmin). Поглощение фотона дальнего красного света (740 нм) превращает $PhyB_{FR}$ в неактивную форму $PhyB_R$ и запускает его диссоциацию от PIF6, что приводит к деактивации целевого промотора митоген-активируемых протеинкиназ, причастных к передаче различных типов сигналов из окружающей среды и от фитогормонов. Таким образом, через фитохром происходит активация экспрессии генов хлоропластных белков и стимуляция процесса дифференцировки хлоропластов, что оказывает непосредственное действие на формирование фотосинтетического аппарата растений.

На основании запускаемых светом с той или иной длиной волны сигналов фитохромной системы растение изменяет стратегию своего развития. Следует отметить, что многие контролируемые фитохромом процессы фотоморфогенеза зависят от длительности и

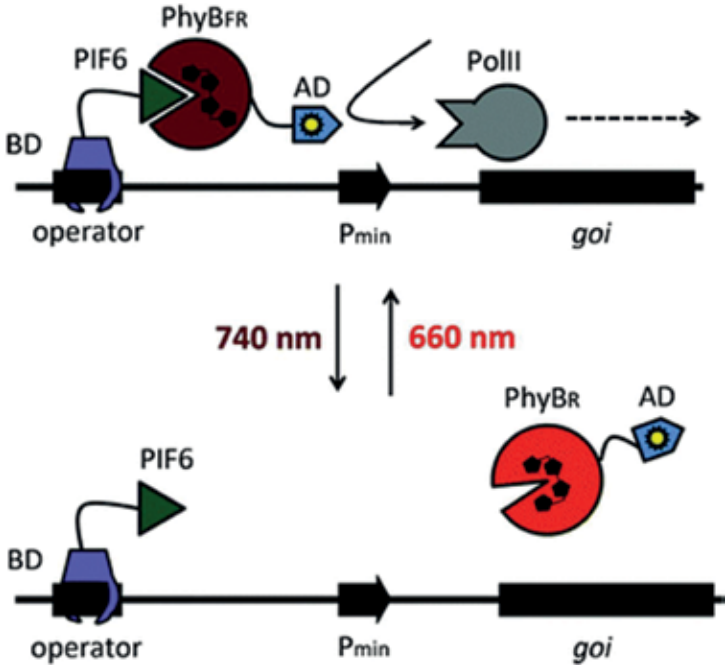

Рис. 2. Схема молекулярного дизайна системы экспрессии генов посредством реагирующих на красный свет фитохромных белков [75]

интенсивности освещения. Например, кратковременное и низкоинтенсивное освещение стимулирует низкоэнергетические реакции растений: подавление удлинения междоузлий, ускорение роста листа, выпрямление крючка гипокотиля и др., а более длительное и более интенсивное облучение способствует нормальному росту побегов.

Синий (390–500 нм) и ближний ультрафиолетовый (370–390 нм) свет с помощью фоторецепторов (криптохромов и фототропинов) регулирует у высших растений такие реакции, как движение хлоропластов, подавление элонгации гипокотиля, циркадный ритм, экспрессия генов и открывание устьиц.

В криптохромах хромофорными группами служат флавин и птерин (или деазафлавин). Светособирающим хромофором является птерин. Белки криптохромов родственны ДНК-фотолиазам – ферментам, которые участвуют в восстановлении повреждений ДНК, вызванных УФ-светом. Хотя криптохромы не могут непосредственно восстанавливать ДНК, первичные акты захвата света у них такие же, как у фотолиаз. Криптохромная фоторецепторная система локализована в ядре. Предполагают наличие светозависимого транспорта криптохромов через ядерную мембрану [57].

Криптохромы и *UVR8* в растениях контролируют биосинтез антоцианов и каротиноидов [42]. От криптохромного сигнала зависит экспрессия генов халконсинтазы, халконизомеразы, дигидрофлавонолредуктазы и других ферментов биосинтеза антоцианов. Криптохромный сигнал тормозит рост гипокотиля на свету, контролирует процессы деэтиоляции и устьичную проводимость. Центральное место в криптохромном процессе регуляции развития растений занимает светозависимое расщепление конститутивного белка, участвующего в фотоморфогенезе *COP1* (constitutive photomorphogenic 1). Например, С-концевой домен *Cry1* взаимодействует с белком *COP1* (Е3-убиквитинлигазой), который участвует в светорегулируемом расщеплении транскрипционных факторов с доменом типа «лейциновой молнии» *HY5* (long hypocotyl 5), *HYH* (гомолог *HY5*), *HFR1* (long hypocotyl in far-red) и *LAF1* (long after far-red light 1). Вызванные светом конформационные изменения криптохромов индуцируют структурную модификацию *COP1*, что приводит к освобождению *HY5*, связанного с *COP1* в темноте [42].

Рассмотренная сигнальная система *Cry1–COP1–HY5*, по всей видимости, участвует в индукции ответных реакций растений на свет высокой интенсивности [57]. Фоторецептор *Cry2* функционирует в основном при низких интенсивностях синего света и, в отличие от *Cry1,* быстро разрушается под действием ближнего ультрафиолетового, синего и зеленого света. На синем свету низкой интенсивности этот рецептор ингибирует элонгацию гипокотиля. Оба криптохрома являются основными регуляторами индуцируемых синим светом генов [42].

Фототропины (*Phot1* и *Phot2*) – мембранные рецепторы синего света. В клетке растения свет влияет на уровень экспрессии фототропинов. Фототропины регулируют такие процессы, как фототропизм побега, движение хлоропластов, устьичные движения, и управляют фототропизмом растений. В качестве хромофора в фототропине присутствует флавин, а также хромофор на основе каротиноида. В связи с этим помимо синего света фототропин воспринимает также и ближний ультрафиолет. *Phot1* и *Phot2* обладают разной фотосенсорной чувствительностью к синему свету. Это приводит к оптимизации фотосинтеза и способствует росту растений в условиях низкой освещенности [51]. *Phot1* является протеинкиназой и функционирует при различных интенсивностях синего света, в то время как *Phot2* действует только на интенсивном синем свету. Этот рецептор играет основную роль в хлоропластной реакции избегания интенсивного света и вместе с *Cry1* защищает растения от избыточного освещения [57].

Известно, что красный и синий свет изменяет содержание отдельных групп фитогормонов [52], а некоторые фитогормоны в темноте могут вызывать реакции, подобные световым [71]. Такие проявления позволяют судить о том, что фитогормоны выступают в роли некоторых промежуточных передатчиков светового сигнала [72].

В настоящее время обнаружен лишь один рецептор – *UVR8*, способный специфично распознавать фотоны ультрафиолетового излучения UV-B [3]. *UVR8* представляет собой белок, который в неактивном состоянии существует в форме димера, локализованного в цитоплазме, а при поглощении ультрафиолетового излучения переходит в активную мономерную форму, способную перемещаться в ядро. Значительная часть активной формы рецептора остается в цитоплазме, но ее функции там пока не известны. Хромофором, поглощающим ультрафиолетовое излучение, выступают остатки триптофана. Редимеризация и инактивация рецептора происходят в темноте в течение нескольких часов. Показано, что *UVR8* запускает фототропизм и зависимый от дальнего ультрафиолетового света фотоморфогенез, который может включать деэтиоляцию, остановку роста гипокотиля проростков, активацию биосинтеза флавоноидов и даже регуляцию циркадных ритмов и устойчивость растений к патогенам и грызущим насекомым. Также установлено, что освещение дальним ультрафиолетовым излучением усиливает уровень иммунитета растений как зависимо, так и независимо от жасмонатного сигналинга.

Несмотря на то что зеленый свет преобладает в спектре солнечного излучения, управляющее действие его на растения мало изучено. До сих пор сохраняется представление об отсутствии фотохимической и физиологической активности зеленого света, и поэтому он используется в качестве «темноты» при постановке физиологических экспериментов [69]. Исследования последних лет показывают существенную активность зеленого света в регуляции морфологии клеток, тканей и органов, процессов фотосинтеза, дыхания и роста, продолжительности этапов онтогенеза растений [7, 70, 74]. Регуляторные пигменты на зеленый свет запускают у растений каскады вторичных мессенджеров, которые активируют геном (ядерный, хлоропластный, митохондриальный) и контролируют активность процессов жизнедеятельности растений. Кроме того, зеленый свет является одним из факторов, управляющих реакциями растений при «синдроме избегания тени» и позволяющих растениям конкурировать с соседями в плотном фитоценозе [45]. Этот синдром затрагивает также экспрессию определенных генов. Одновременно сигналы зеленого света инициируют экспрессию генов, профили которых напоминают профили экспрессии генов, опосредованные длинноволновым красным светом, т.е. фитохром может

быть преобразован зеленым светом в биологически активную форму, абсорбирующую длинноволновый красный свет [74]. Несмотря на то что пороговая величина интенсивности зеленого света для возбуждения фитохрома в 2,5 раза выше, чем красного света, его действие при насыщающих фитохромный эффект дозах близко к регуляторному действию красного света. Зеленый свет участвует в регуляции эндогенного уровня фитогормонов, поддерживая синтез и перераспределение ауксина, в деградации белков семейства DELLA и увеличивает экспрессию генов, активированных ауксинами, гиббереллинами и брассиностероидами [43]. Однако остается нераскрытой природа рецептора зеленого света, практически не изучен гормональный статус растений при адаптации к такому свету, не выяснена трансдукция сигнала зеленого света.

Экспериментальные результаты изучения светового управления морфогенезом растений

Каким образом свет управляет геномом растений и как комбинацией спектральных компонент излучения и их интенсивности создать оптимальный режим освещения, чтобы максимально раскрыть генетический потенциал и обеспечить максимальную урожайность растений? Решение этих проблем должно быть основано на экспериментах с различными растениями. Множество ранее выполненных исследований с использованием монохроматоров и специальных спектральных фильтров позволило детально изучить влияние качественного состава света на развитие растений [30]. Однако эти исследования до сих пор не дали однозначного ответа на поставленные выше вопросы. По-видимому, в значительной мере это было обусловлено отсутствием широкополосных источников излучения с управляемым спектральным составом. Одним из способов получения широкополосного светового излучения является совместное использование в одном осветительном приборе различных полупроводниковых светодиодов. Современные светодиоды перекрывают чрезвычайно широкий диапазон спектров излучения – от ультрафиолетового до инфракрасного [27]. Таким образом, комбинируя набор разных светодиодов, можно создать мультиспектральные управляемые источники света, позволяющие получить свет любой интенсивности и

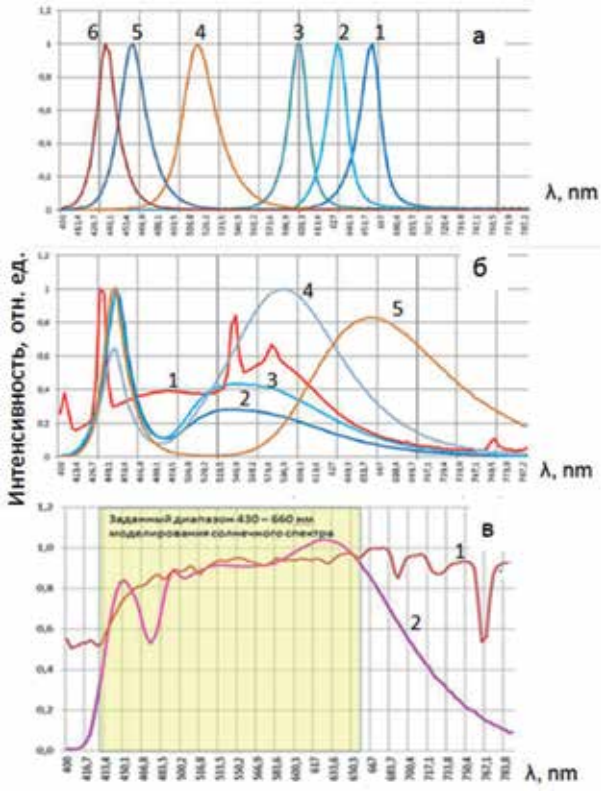

Рис. 3. Примеры спектров излучения, создаваемых многоэлементным матричным светодиодным источником света: *а* – монохроматический спектр: *1* – красный (R), *2* – глубокий красный (DR), *3* – желтый (Y), *4* – зеленый (G), *5* – голубой (B), *6* – глубокий голубой (RB); *б* – спектры излучения: *1* – люминесцентная лампа белого света (LFW), *2–5* – полихроматический спектр матричного многоэлементного LED: *2* – холодный белый (CW), *3* – белый (W), *4* – теплый белый (WW), *5* – полный спектр (FS); *в* – спектр излучения Солнца (S) – *1*, полный спектр многоэлементного матричного LED (SS) – *2*

с практически любым спектральным составом. На рис. 3 приведены спектральные характеристики управляемого многоэлементного матричного светодиодного источника света, описанного в работах [47, 60]. Данный источник света позволяет по заданной программе изменять интенсивность, спектральный состав и длительность светового потока.

В работе [59] изучено влияние спектрального состава и интенсивности широкополосного светового излучения на рост и развитие растений с использованием многоэлементного матричного светодиодного источника света, спектр излучения которого варьировался в диапазоне длин волн 440–660 нм (SS) и мог быть близким по спектральному составу к спектру излучения Солнца. Эксперименты проводили на растениях – регенерантах картофеля *Solanum tuberosum* L., оздоровленных методом апикальной меристемы и культивируемых в условиях *in vitro*. Для контроля использовали растения, выращенные под люминесцентными лампами (LFW). Результаты экспериментов, иллюстрирующие динамику развития растений при воздействии разных спектров излучения, представлены на рис. 4 [5].

Опыты показали, что растения, выросшие на синем свету (B, RB), приземисты, а на красном (R, DR) – вытянуты. Листья первых имеют нормальные размеры, вторых – недоразвиты и неправильной формы. Красные лучи спектра стимулируют фазу растяжения клеток, а сине-фиолетовые – фазу дифференциации. Растения, выросшие под желтым и зеленым излучением (Y, G), демонстрируют вытянутость и слабое развитие листвы, т.е. монохроматический желтый и зеленый свет способствует быстрому росту в длину (при этом формируются хрупкие и тонкие растения), но это не приводит к накоплению достаточной биомассы. В целом для растений, культивируемых при монохроматическом свете (кроме синего и глубокого синего), отмечена максимальная высота стебля, в 1,5 раза превышающая аналогичный показатель у контрольной группы растений, выращиваемых под люминесцентной лампой. Наибольшее увеличение длины стебля у данных групп растений происходит за счет вытягивания междоузлий.

Переход к полихроматическому излучению (CW, W, WW, FS и SS) демонстрирует явное отличие от монохроматического освещения, которое проявляется в более интенсивном развитии листвы и корневой системы растений. В то же время высота растений, культивируемых при полихроматическом свете, в 0,6 раза меньше, чем в контроле (люминесцентная лампа – LFW). Наибольшая длина и ширина листьев выявлены у растений, выращиваемых при глубоком синем (RB) и холодном белом свете (CW). Максимальная масса надземной части растений отмечена у экземпляров, выращенных при полихроматическом свете (CW и W). Это свидетельствует об эффективности полихроматического светового излучения, имеющего парные спектральные максимумы на длинах волн 446,8 и 546,9 нм (CW), 446,8 и 550,2 нм (W).

Очень часто универсальность и эффективность не совпадают. Исследования на ценозах показали, что у растений разных видов наблюдаются различные требования к оптимальному сочетанию спектральных и энергетических характеристик светового режима [13]. Как отмечалось выше, основную роль в регуляции морфогенетических процессов у растений выполняют фоторецепторы: фитохромы, криптохромы и фототропин, управляющие фитогормонами клеток растений, синтез и воздействие на которые активированных светом фоторецепторных белков либо не исследованы вообще, либо изучены недостаточно. В частности, известно, что красный и синий свет изменяет содержание отдельных групп фитогормонов, что может проявиться в специфичности действия спектра излучения на морфогенез растений.

Были проведены эксперименты по выращиванию *in vitro* микроклональных растений картофеля *Solanum tuberosum* L. при освещении двухкомпонентным излучением с длинами волн 460 и 660 нм, которые попадают в максимум поглощения хлорофилла *b*, а также при освещении широкополосным, близким по спектральному составу к излучению Солнца, светодиодным излучением (SS) в диапазоне длин волн от 440 до 660 нм. В последнем случае SS-спектр излучения позволяет не только возбудить хлорофилл *a* и *b*, но и активировать практически все фоторецепторные белки растений. На рис. 5 приведены

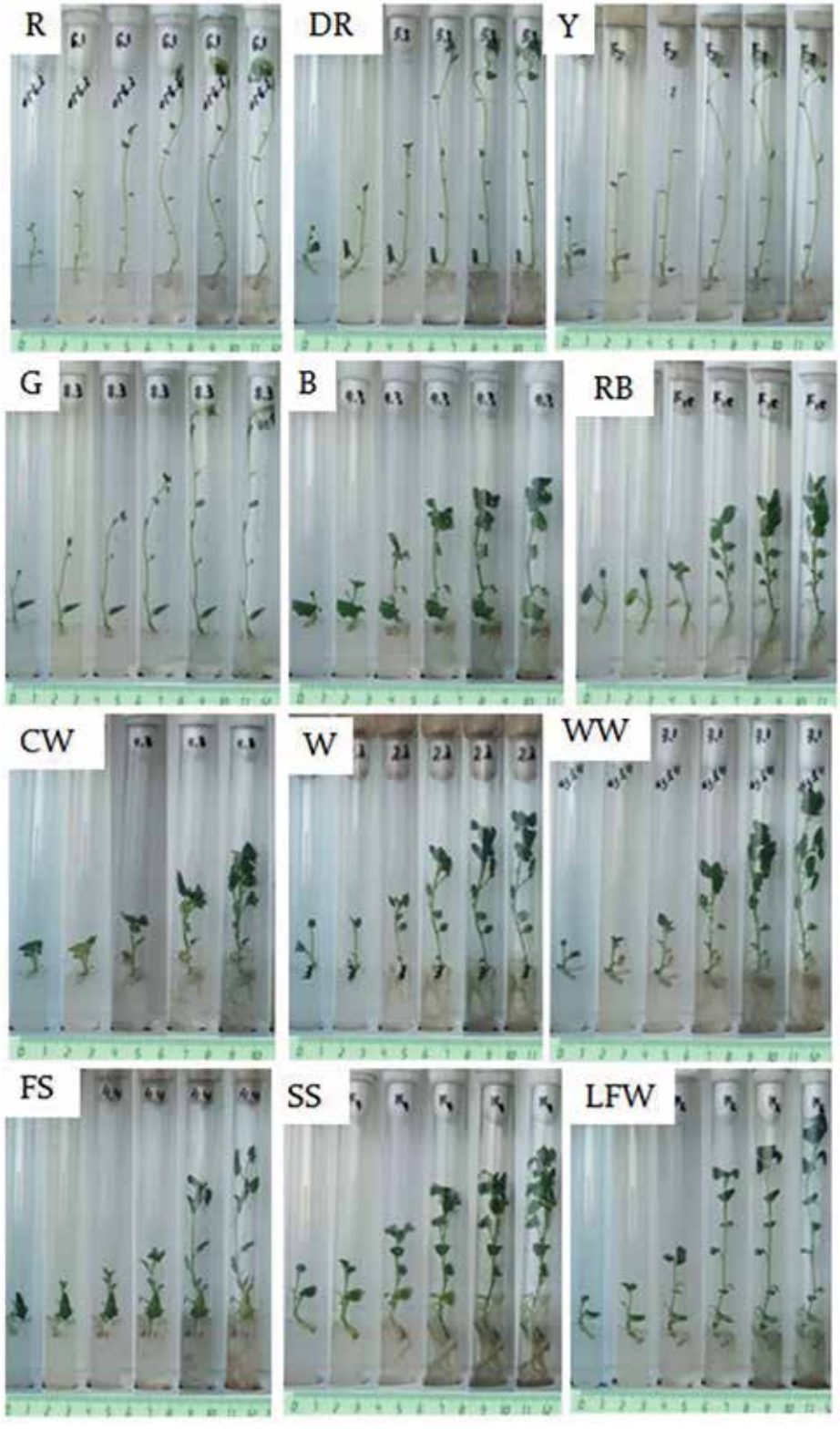

Рис. 4. Фотографии микроклональных растений картофеля, выращенных *in vitro* при облучении разными спектрами излучения, создаваемого управляемыми матричными LED-источниками света (интервал фиксации результатов эксперимента – 7 дней)

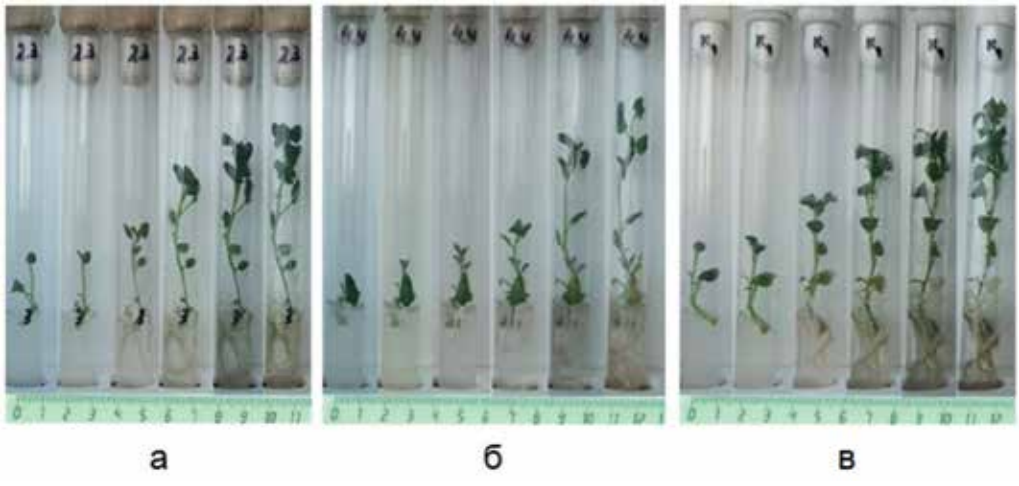

Рис. 5. Фотографии микроклональных растений картофеля, выращенных *in vitro* при облучении: *а* – люминесцентной лампой белого света (LFW), *б* – двухспектральным LED-источником с максимумами на длинах волн 460 и 660 нм, *в* – управляемым SS-многокомпонентным матричным LED-источником с разными спектрами излучения на длинах волн 440–660 нм. Интервал фиксации развития растений – 7 дней

фотографии динамики развития микроклональных растений в сравнении с контрольным освещением люминесцентной лампой белого света. Результаты экспериментов показали, что использование SS-источника излучения позволяет добиться увеличения биомассы растений на 30 % в сравнении с двухволновым облучением и увеличения биомассы на 17 % по отношению к контрольному освещению. Таким образом, для обеспечения максимальной продуктивности растений целесообразно использование широкополосного светового излучения.

Существующие источники искусственного света, за редким исключением, не могут воспроизводить солнечный спектр в диапазоне фотосинтетически активной радиации или генерируют похожий спектр, но с пиковыми выбросами на ряде отдельных частот (рис. 1), что не позволяет добиться максимальной эффективности. Поэтому SS-многокомпонентный матричный LED-источник излучения представляет значительный интерес для повышения урожайности сельскохозяйственных культур. В то же время наряду с подбором спектрального состава излучения необходимо обращать внимание и на энергетическую компоненту излучения. Исследования, выполненные *in vitro* с растениями – регенерантами картофеля *S. tuberosum* сортов «Рождественский» и «Снегирь», а также стевии медовой (*Stevia rebaudiana*), показали наличие оптимальной интенсивности широполосного освещения растений, при которых достигается их максимальный отклик [22, 29].

На рис. 6 приведены фотографии, иллюстрирующие эффективность процесса развития стевии медовой при разном уровне интенсивности ее освещения широкополосным источником излучения спектра SS.

Воспринимая световые сигналы, фоторецепторы инициируют внутриклеточные сигнальные пути и тем самым регулируют развитие растений на протяжении всего жизненного цикла. Сигналом для запуска морфогенеза растений служит изменение соотношения фитогормонов цитокининов и ауксинов, которые являются регуляторами не только роста, но и дифференцировки клеточных структур. Взаимодействие гормонов растений может наблюдаться в формах синергизма и антагонизма. Синергическое действие связано с взаимным усилением действия гормонов на какой-либо процесс. Так, в частности, регенерация побегов из каллуса активизируется под действием цитокининов в присутствии ауксинов. Как правило, существует несколько путей, по которым может пойти развитие каллусной клетки. Поскольку основную роль в регуляции морфогенетических процессов светом выполняют фоторецепторы, то в каллусной структуре под воздействием света

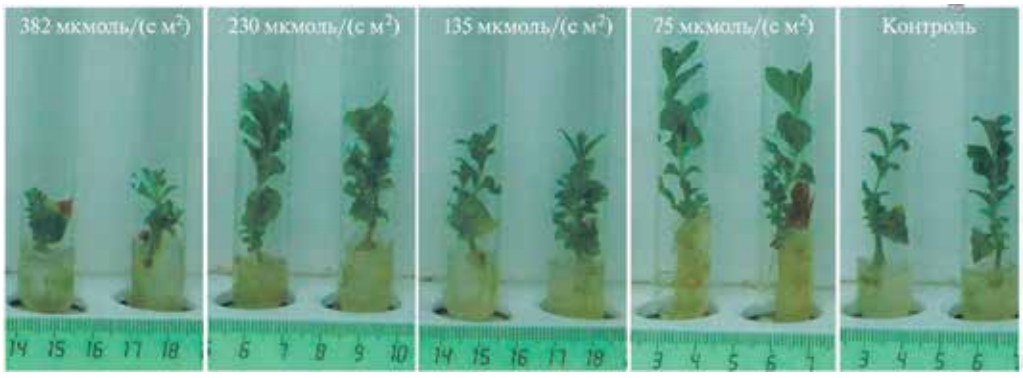

Рис. 6. Внешний вид растений стевии медовой *Stevia rebaudiana*, культивированных при разной интенсивности света

происходит синтез фитогормонов, который активируется различным спектром излучения через фоторецепторные белки.

В культуре каллусных тканей под морфогенезом понимают возникновение организованных структур из неорганизованной массы клеток. В работе [60] исследовалось влияние спектра облучения на развитие дифференцированных зон в каллусной массе клеточной культуры риса сорта «Долинный».

На рис. 7 приведены фотографии, иллюстрирующие понедельную динамику развития культуры в *in vitro*.

Было установлено, что для каждого спектра излучения существует оптимальная интенсивность излучения, при которой наблюдается максимальная скорость развития каллусной культуры. Приведенные в таблице результаты наблюдений позволяют проследить динамику влияния регулируемого различным спектром излучения фоторецепторного отклика на взаимодействия гормонов ауксинов и цитокининов. Известно, что ауксины действуют на рост клеток двухфазно, в зависимости от концентрации: при низких дозах ускоряют, а при более высоких тормозят процессы роста. В стерильных тканевых культурах добавление цитокининов вызывает дифференцировку клеток в зависимости от концентрации гормона.

В частности, под действием цитокинина синтезируется хлорофилл. Как видно, присутствие значительной части синего света с небольшим содержанием красного в полихроматическом излучении LFW и CW (спектральный состав излучения показан на рис. 3) приводит к росту зеленой (хлорофилльной) массы, что, по-видимому, обусловлено

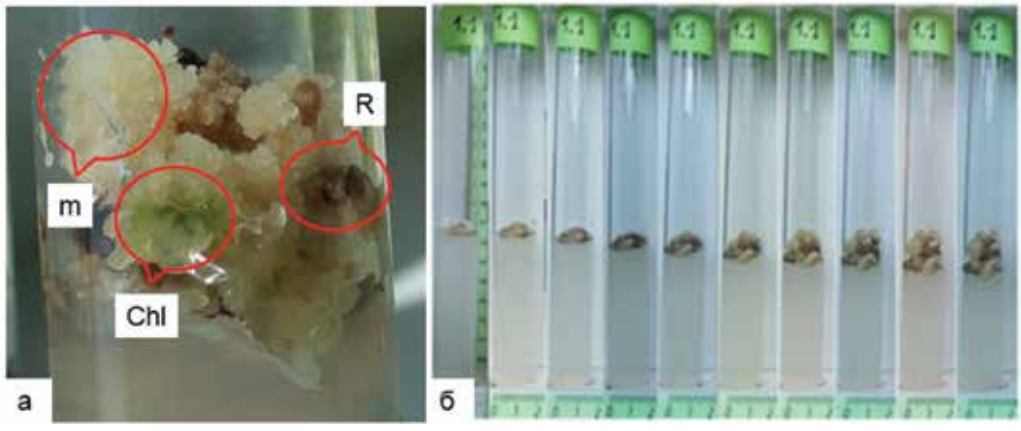

Рис. 7. Фотография каллусной массы (m) клеточной культуры риса сорта «Долинный» (*а*) с включениями зеленой (Chl) и коричневой (R) зон, а также понедельная динамика развития культуры *in vitro* (*б*)

Динамика роста зеленой и коричневой зон, а также каллусной массы клеточной культуры риса сорта «Долинный» под воздействием различных спектров излучения

День наблюдения	Спектр излучения									
	LFW	CW	W	WW	DR	R	Y	G	B	RB
42	+	+	+	+	–	–	–	–	–	+
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	m	–
49	++	+	+	+	–	–	–	–	++	++
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	–	–
56	++	+	+	+	–	–	–	–	+++	++
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	–	–
63	+++	+	+	+	–	–	–	–	+++	+
	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	–	m
70	+++	+++	+	+	–	–	–	–	++	+
	–	–	–	R	–	–	–	–	R	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	–	m
77	+++	+++	–	+	–	–	–	–	+	–
	–	–	–	R	R	R	–	–	R	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	m	m
84	+++	++++	–	++	–	–	–	–	+	–
	–	–	–	R	R	R	–	–	R	–
	–	–	–	–	m	m	m	m	m	m
91	+++	+++++	–	++	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	R	R	R	–	–	R	–
	–	–	m	m	m	m	m	m	m	m
98	+++	+++++	–	++	–	–	–	–	–	–
	R	–	–	R	–	R	–	–	R	–
	–	–	m	m	m	–	m	m	m	m
105	+++	+++++	–	++	–	–	–	–	+	–
	R	R	–	R	–	R	–	–	R	–
	–	m	–	m	–	–	m	m	m	m

Примечание. + – увеличение объема хлорофилла, R – увеличение объема коричневой зоны, m – увеличение объема каллусной массы. Прочерк означает отсутствие роста.

повышением концентрации цитокининов по отношению к ауксинам. Уменьшение или отсутствие доли синего света в спектре излучения тормозит образование хлорофилльной массы, тогда как повышение доли красной компоненты ведет к образованию коричневой (корневой) клеточной структуры и росту массы каллуса, что, видимо, обусловлено повышением концентрации ауксинов.

Таким образом, выявленный процесс регуляторного действия спектра излучения на ключевые этапы дифференцировки клеток каллуса, зависящие от соотношения гормонов ауксинов и цитокининов, образующихся под воздействием фоторецепторной системы в клеточной массе каллусов, дает основание говорить о необходимости дальнейшего развития фундаментальных исследований регуляторного действия света, которые должны послужить прогрессу в создании новых механизмов эндогенной регуляции развития растений.

Заключение

Последние 10 лет в научном сообществе прочно укоренился термин «оптогенетика». Сегодня оптогенетика – междисциплинарное научное направление, объединяющее генную инженерию, оптику и физиологию. Оптогенетика позволяет избирательно изучать определенные клетки и управлять их работой путем внедрения в мембрану клеток методами генной инженерии светочувствительных компонентов (белков), которые в ответ на световое излучение определенной длины волны могут изменять свойства клетки-носителя

и служить ее флуоресцентными метками [12, 40]. В отличие от животных, растения изначально должны реагировать на свет, чтобы жить. Для этого у них существует созданная природой фоторецепторная система. Поэтому свет для растений не только источник энергии, но и важный фактор окружающей среды, который контролирует различные пути передачи сигналов. Свет является одним из основных регуляторов развития растений и их метаболизма. Экспрессия генов у растений регулируется светом на многих уровнях. Уровень генного продукта может контролироваться путем регуляции уровня транскрипции его гена или путем регуляции трансляции его мРНК в белок [66].

На сегодня взаимосвязь между фоторецепторной системой растений и эндогенными программами их развития по-прежнему остается малоизученной. Хотя активация светом генетического аппарата биосинтеза белков уже не вызывает сомнений, следует подчеркнуть, что подобный эффект представляет собой не начальный, а один из заключительных этапов действия фоторецепторных белков, а материальная природа сигнала, распространяющегося от фоторецептора к ядру клетки, остается невыясненной. При этом морфогенетические реакции могут происходить, по-видимому, вообще без участия ядерного аппарата клетки. Положение усложняется еще и тем, что отклики различных фоторецепторных белков в ряде случаев дублируются или обладают сходным действием, и не все эффекты имеют одинаковые временные характеристики. Большинству световых реакций растений соответствует длительный (несколько часов) латентный период, однако известны и такие реакции, которые происходят практически сразу же после освещения. Поэтому до сих пор нет общепринятых критериев для разграничения первичных, промежуточных и конечных индуцированных фотохромных эффектов.

Ответить на все эти вопросы необходимо, если человечество ставит своей задачей овладеть процессом фотоморфогенеза растений в целях повышения эффективности производства сельскохозяйственных культур и наиболее полного раскрытия их генетического потенциала.

Таким образом, актуальным становится формирование нового междисциплинарного, с большой инновационной компонентой, научного направления – оптогенетика растений.

Оптогенетика растений – это набор технологий, которые позволяют при помощи излучения возбуждать или затормаживать активность определенных генов клеток растений, используя природную фоторецепторную белковую систему. Главная цель создаваемого научного направления – расшифровать процессы активации светом генетического аппарата биосинтеза белков и сигнальных механизмов в клетках растений и на базе этого разработать технологию эффективного стимулирования внутренних механизмов продукционного развития без геномной модификации растений и стимулирования химикатами.

Основные задачи исследования оптогенетического управления развитием растений можно сформулировать следующим образом:

1) исследовать взаимосвязь между фоторецепторной системой растений и эндогенными программами их развития;

2) изучить сигнальные каскады и процессы взаимодействий между фитохромами и фитогормонами;

3) исследовать процессы регуляции светом гормонального и генетического аппаратов биосинтеза белков в клетках растений;

4) найти гены, работа которых при воздействии на растение излучением определенного спектра и интенсивности ведет клетки по пути той или иной дифференцировки;

5) изучить механизмы, которые при воздействии излучения определенного спектра и интенсивности включают или выключают эти гены в нужный момент;

6) понять, как световое излучение стимулирует взаимодействие разных генов и каков порядок их работы и характер (торможение или активация);

7) создать схему светового генетического контроля развития клетки, ткани, частей и всего растения;

8) научиться управлять с помощью света не только продуктивностью, но и стрессоустойчивостью растений;

9) разработать технологии эффективного светового стимулирования внутренних механизмов продукционного развития растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький Е.Ф., Рискин И.В. Химия и технология пигментов. 4-е изд., пер. и доп. Л.: Химия, 1974. 656 с.
2. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. М.: Мир, 1986. 422 с.
3. Войцеховская О.В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений // Физиол. растений. 2019. Т. 66, № 3. С. 163–177.
4. Воскресенская Н.П. Фотосинтез и спектральный состав света. М.: Наука, 1965. 309 с.
5. Гафицкая И.В., Наконечная О.В., Журавлев Ю.Н., Субботин Е.П., Кульчин Ю.Н. Перспективы использования светодиодного излучения при культивировании *in vitro* растений – регенерантов картофеля // Перспективы фотобиотехнологии для улучшения качества жизни на Севере: сб. материалов III науч.-практ. конф. с международным участием. Якутск, 2018. С. 35–37.
6. Головацкая И.Ф. Морфогенез растений и его регуляция. Ч. 1. Фоторегуляция морфогенеза растений. Томск: Томский гос. ун-т, 2016. 172 с.
7. Головацкая И.Ф., Карначук Р.А. Роль зеленого света в жизнедеятельности растений // Физиол. растений. 2015. Т. 62, № 6. С. 776–791.
8. Гречкин А.Н., Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток и геном // Биоорган. химия. 2000. Т. 26, № 10. С. 779–781.
9. Гэлстон А., Девис П., Сэттер Р. Жизнь зеленого растения. М.: Мир, 1983. 552 с.
10. Дерфлинг К. Гормоны растений. Системный подход. М.: Мир, 1985. 304 с.
11. Дубовская Л.В., Молчан О.В., Волотовский И.Д. Фоторегуляция цГМФ в проростках овса // Физиол. растений. 2001. Т. 48, № 1. С. 26–29.
12. Ерофеев А.И., Матвеев М.В., Терехин С.Г., Захарова О.А., Плотникова П.В., Власова О.Л. Оптогенетика – новый метод исследования нейрональной активности // Науч.-техн. ведомости СПбГПУ. Физ.-мат. науки. 2015. № 3 (225). С. 61–74.
13. Жилинский Ю.М., Кумин В.Д. Электрическое освещение и облучение. М.: Колос, 1982. 268 с.
14. Заворуева Е.Н., Заворуев В.В., Крум С.П. Лабильность первой фотосистемы фототрофов в различных условиях окружающей среды. Красноярск: Сиб. фед. ун-т, 2011. 152 с.
15. Карначук Р.А., Негрецкий В.А., Головацкая И.Ф. Гормональный баланс листа растения на свету разного спектрального состава // Физиол. растений. 1990. Т. 37, № 3. С. 527–534.
16. Конев С.В. Фотобиология. Минск: БГУ, 1979. 385 с.
17. Кулаева О.Н. Как свет регулирует жизнь растений // Соросовский образоват. журн. 2001. Т. 7, № 4. С. 6–12.
18. Кулаева О.Н., Кузнецов В.В. Новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов и их участия в сигнальных системах целого растения // Вестн. РФФИ. 2004. № 36. С. 12–36.
19. Ладыгин В.Г., Ширшикова Г.Н. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот // Журн. общ. биологии. 2006. Т. 67, № 3. С. 163–189.
20. Макаренко О.А., Левицкий А.П. Физиологические функции флавоноидов в растениях // Физиол. и биохимия культ. раст. 2013. Т. 45, № 2. С. 100–112.
21. Муромцев Г.С., Агнистикова В.Н. Гиббереллины. М.: Наука, 1984. 208 с.
22. Наконечная О.В., Гафицкая И.В., Бурковская Е.В., Хроленко Ю.А., Грищенко О.В., Журавлев Ю.Н., Субботин Е.П., Кульчин Ю.Н. Влияние интенсивности света на морфогенез *Stevia rebaudiana* в условиях *in vitro* // Физиол. растений. 2019. Т. 66, № 4. С. 304–312.
23. Полевой В.В. Внутриклеточные и межклеточные системы регуляции у растений // Соросовский образоват. журн. 1997. № 9. С. 6–11.
24. Полевой В.В. Фитогормоны. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. 248 с.
25. Протасова Н.Н. Светокультура как способ выявления потенциальной продуктивности растений // Физиол. растений. 1987. Т. 34, № 4. С. 812−822.
26. Роньжина Е.С. Цитокинины в регуляции донорно-акцепторных связей у растений. Калининград: Изд-во КГТУ, 2005. 266 с.
27. Светодиоды и их применение для освещения / под ред. Ю.Б. Айзенберга. М.: Знак, 2011. 280 с.
28. Синнот Э. Морфогенез растений. М.: Изд-во иностр. лит., 1963. 601 с.
29. Субботин Е.П., Гафицкая И.В., Наконечная О.В., Журавлев Ю.Н., Кульчин Ю.Н. Влияние искусственного солнечного света на рост и развитие растений – регенерантов *Solanum tuberosum* // Turczaninowia. 2018. Т. 21(2). С. 32–39.
30. Тихомиров А.А., Шарупич В.П., Лисовский Г.М. Светокультура растений: биофизические и биотехнологические основы. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2000. 213 с.

31. Тюреева Е.В., Дмитриева В.А., Войцеховская О.В. Хлорофилл *b* как источник сигналов, регулирующих развитие и продуктивность растений // Сельхоз. биология. 2017. Т. 52, вып. 5. С. 843–855.

32. Фрайкин Г.Я. Белковые сенсоры света: фотовозбужденные состояния, сигнальные свойства и применение в оптогенетике. М.: АР-Консалт, 2018. 87 с.

33. Холл Д., Рао К. Фотосинтез: пер. с англ. М.: Мир, 1983. 134 с.

34. Цыганкова В.А., Галкина Л.А., Мусатенко Л.И., Сытник К.М. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Гены биосинтеза ауксинов и ауксинрегулируемые гены, контролирующие деление и растяжение клеток растений // Биополимеры и клетка. 2005. Т. 21, № 2. С. 107–133.

35. Червяковский В.П., Курченко В.А., Костюк Е.М. Роль флавоноидов в биологических реакциях с переносом электронов // Тр. Белорус. гос. ун-та. 2009. Т. 4, № 1. С. 9–26.

36. Шевелуха В.С. Периодичность роста сельскохозяйственных растений и пути ее регулирования. 2-е изд., доп. М.: Колос, 1980. 455 с.

37. Baier M., Dietz K.J. Chloroplasts as source and target of cellular redox regulation: A discussion on chloroplast redox signals in the context of plant physiology // J. Exp. Bot. 2005. Vol. 56, N 416. P. 1449–1462.

38. Blankenship R.E. Molecular Mechanisms of Photosynthesis. Oxford; Paris: Blackwell Science, 2002. 321 p.

39. Bogre L., Meskiene I., Heberle-Bors E., Hirt H. Stressing the role of MAP kinases in mitogenic stimulation // Plant. Mol. Biol. 2000. Vol. 43, N 5/6. P. 705–718.

40. Boyden E.S., Zhang F., Bamberg E., Nagel G., Deisseroth K. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity // Nat. Neurosci. 2005. Vol. 8, N 9. P. 1263–1268.

41. Briggs W.R., Olney M.A. Photoreceptors in plant photomorphogenesis to date. Five phytochromes, two cryptochromes, one phototropin, and one superchrome // Plant physiol. 2001. Vol. 125, N 1. P. 85–88. – http://www.plantphysiol.org/content/125/1/85.fu

42. Bulgakov V.P., Avramenko T.V. , Tsitsiashvili G.Sh. Critical analysis of protein signaling networks involved in the regulation of plant secondary metabolism: focus on anthocyanins // Crit. Rev. Biotechnol. 2017. Vol. 37, N 6. P. 685–700.

43. Casal J.J. Shade avoidance // The Arabidopsis Book. 2012. N 10. – https://doi.org/10.1199/tab.0157

44. Chen M., Chory J. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development // Trends in Cell Biol. 2011. Vol. 21, N 11. P. 664–671.

45. Folta K.M., Maruhnich S.A. Green light: a signal to slow down or stop // J. Exp. Bot. 2007. Vol. 58. P. 1–13.

46. Folta K.M., Childers K.S. Light as a growth regulator: controlling plant biology with narrow-bandwidth solid-state lighting systems // HortScience. 2008. Vol. 43, N 7. P. 1957–1964.

47. Gafitskaya I.V., Nakonechnaya O.V., Grishchenko O.V., Bulgakov V.P., Zhuravlev Yu.N., Subbotin E.P., Kulchin Yu.N. Growth of Solanum tuberosum plantlets *in vitro* under LED light sources // Asia-Pacific Conference on Fundamental Problems of Opto- and Microelectronics. Taipei, Taiwan, 2017. Proceedings. 2019. Vol. 11024. – DOI: 10.1117/12.2314903.

48. Galvão R.M., Li M., Kothadia S.M., Haskel J.D., Decker P.V., Van Buskirk E.K., Chen M. Photoactivated phytochromes interact with HEMERA and promote its accumulation to establish photomorphogenesis in Arabidopsis // Genes Dev. 2012. Vol. 26. P. 1851–1863.

49. Galvão V.C., Fankhauser C. Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps // Curr. Opin. Neurobiol. 2015. Vol. 34. P. 46–53.

50. Garrington T.P., Johnson G.L Organization and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathways // Curr. Opin. Biol. 1999. Vol. 11. P. 211–218.

51. Goh Ch.H. Phototropins and chloroplast activity in plant blue light signaling // Plant Signal Behav. 2009. Vol. 4 (8). P. 693–695.

52. Hirose F., Shinomura T., Tanabata T., Shimada H, Takano M. Involvement of rice cryptochromes in de-etiolation responses and flowering // Plant and Cell Physiol. 2006. Vol. 47. P. 915–925.

53. Ito S., Song Y.H., Imaizumi T. LOV domain-containing F-box proteins: light-dependent protein degradation modules in Arabidopsis // Mol. Plant. 2012. Vol. 5. P. 573–582.

54. Jabben N., Shanklin J., Viersta R.D. Red light-induced accumulation of ubiquitin-phytohrome conjugates in both monocods and dicods // Plant Physiol. 1989. Vol. 90. P. 380–384.

55. Kagawa T., Sakai T., Suetsugu N., Oikawa K., Ishiguro S., Kato T., Tabata S., Okada K., Wada M. Arabidopsis NPL1: a phototropin homolog controlling the chloroplast high-light avoidance response // Science. 2001. Vol. 291. P. 2138–2141.

56. Kim T.H., Kim B.H., Armin A.G. Represors of photomorfogenesis // Int. Rev. Cytol. 2002. Vol. 220. P. 185–223.

57. Kleine T., Kindgren P., Benedict C., Hendrickson L., Strand A. Genome-wide gene expression analysis reveals a critical role for CRYPTOCHROME1 in the response of Arabidopsis to high irradiance // Plant Physiol. 2007. Vol. 144. P. 1391–1406.

58. Klose C., Viczian A., Kircher S., Schäfer E., Nagy F. Molecular mechanisms for mediating light-dependent nucleo/cytoplasmic partitioning of phytochrome photoreceptors // New Phytol. 2015. Vol. 206. P. 965–971.

59. Kulchin Yu.N., Nakonechnaya O.V., Gafitskaya I.V., Grishchenko O.V., Epifanova T.Yu., Orlovskaya I.Yu., Zhuravlev Yu.N., Subbotin E.P. Plant Morphogenesis under Different Light Intensity // Defect and Diffusion Forum. 2018. Vol. 386. P. 201–206.

60. Kulchin Yu.N., Zmeeva V.N., Subbotin E.P., Kostyanko A.A. The Effect of Multispectral Light Emitting Diodes (LEDs) on the Activation of Morphogenic Processes in Cell Culture of Rice Oryza Sativa l // Defect and Diffusion Forum. 2018. Vol. 386. P. 236–243.

61. Kũltz D. Phylogenetic and functional classification of mitogen- and stress-activated protein kinases // J. Mol. Evol. 1998. Vol. 46. P. 571–588.

62. Li J., Gang L., Haiyang W., Deng X.W. Phytochrome Signaling Mechanisms // Arabidopsis Book. 2011. Vol. 9. P. e0148. – DOI: 10.1199/tab.0148.

63. Machida Y., Nishihama R., Kitakura S. Progress in studies of plant homologs of mitogen-activated protein (MAP) kinase and potential upstream components in kinase cascades // Crit. Revs Plant Sci. 1997. Vol. 16. P. 481–496.

64. Moglich A., Moffat K. Engineered photoreceptors as novel optogenetic tools // Photochem. Photobiol. Sci. 2010. Vol. 9. P. 1286–1300.

65. Mohr H., Schopfer P. Plant physiology. Berlin: Springer-Verlag, 1995. 629 p.

66. Mural R.J. Fundamentals of Light-Regulated Gene Expression // Plant Genetic Eng. / eds B.B. Biswas, J.R. Harris. Boston: Springer, 1991. P. 191–211. (Subcellular Biochem.; vol. 17).

67. Neuhaus G., Bowler C., Kern R., Chua N.A. Calcium/calmodulim-dependent and independent phytohrome signal transduction pathways // Nature. 1999. Vol. 400. P. 781–784.

68. Parks B.M., Folta K.M., Spalding E.P. Photocontrol of stem growth // Curr. Opin. Plant Biol. 2001. Vol. 4. P. 436–440.

69. Perdon J., Thiery L., Agnes C., Simond-Côte E. Polar auxin transport is required for inhibition by blue light of the elongation-related LeEXT tomato gene // Plant Growth Regul. 2004. Vol. 42. P. 113–123.

70. Pfeiffer A., Kunkel T., Hiltbrunner A., Neuhaus G., Wolf I., Speth V., Adam E., Nagy F., Schäfer E. A cell-free system for light-dependent nuclear import of phytochrome // Plant J. 2009. Vol. 57. P. 680–689.

71. Su W., Howell S.H. The effects of cytokinin and light on hypocotyl elongation in Arabidopsis seedlings are independent and additive // Plant Physiol. 1995. Vol. 108. P. 1423–1430.

72. Tanaka Y., Asaoka K., Takeda S. Different feeding and gustatory responses to ecdysone and 20-hydroxyecdysone by larvae of the silkworm, *Bombix mori* // J. Chem. Ecol. 1994. Vol. 20, N 1. P. 125–133.

73. Terry M.J., Maines M.D., Lagarias J.C. Inactivation of phytochrome- and phycobiliprotein-chromophore precursors by rat liver biliverdin reductase // J. Biol. Chem. 1993. Vol. 268, N 35. P. 26099–26106.

74. Wang Y., Folta K.M. Contributions of green light to plant growth and development // Amer. J. Bot. 2013. Vol. 100. P. 70–78.

75. Wu D., Hu Q., Yan Z., Chen W., Yan C., Huang X., Zhang J., Yang P., Deng H., Wang J., Deng X.W., Shi Y. Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8 // Nature. 2012. Vol. 484. P. 214–219.