

Ю.Н. КУЛЬЧИН, В.П. БУЛГАКОВ, Е.П. СУББОТИН, Д.О. ГОЛЬЦОВА,
А.С. ХОЛИН, Л.П. ЛЯХОВА, Н.И. СУББОТИНА, И.В. ГАФИЦКАЯ,
В.П. ГРИГОРЧУК, Е.В. БУРКОВСКАЯ, Ю.А. ХРОЛЕНКО,
И.Ю. ОРЛОВСКАЯ, О.В. НАКОНЕЧНАЯ

Фотонная регуляция биосинтеза вторичных метаболитов в салате *Eruca sativa*

*Вторичные метаболиты растений являются уникальными источниками для фармацевтических препаратов, пищевых добавок и промышленно важных биохимических веществ. Накопление таких метаболитов происходит в растениях, подвергающихся стрессам. В настоящей статье исследуется влияние абиотического стресса, вызванного бинарным изменением спектрального состава излучения, создаваемого матричными LED-источниками света, на развитие и производство вторичных метаболитов в культивируемом в защищенных условиях салате *Eruca sativa*. Установлено главенствующее влияние соотношения интенсивностей «синего» и «красного» спектральных диапазонов в бинарно переключающихся световых потоках. Найдены режимы, при которых накопление зеленой биомассы и развитие корневой системы растений существенно превышают показатели контроля. Выявлено наличие компромисса между качественными характеристиками потока светового излучения и вносимым бинарным спектральным стрессом, при котором происходит увеличение сырой массы растений при одновременном повышении синтеза таких вторичных метаболитов, как аскорбиновая кислота и флавоноиды.*

Ключевые слова: биофотоника, искусственное освещение, спектр, растения, химический состав.

Photonic regulation of biosynthesis of secondary metabolites in rocket *Eruca sativa*. Yu.N. KULCHIN^{1, 3}, V.P. BULGAKOV², E.P. SUBBOTIN¹, D.O. GOLTSOVA¹, A.S. KHOLIN¹, L.P. LYAKHOVA³, N.I. SUBBOTINA¹, I.V. GAFITSKAYA², V.P. GRIGORCHUK², E.V. BURKOVSKAYA², Yu.A. KHROLENKO², I.Yu. ORLOVSKAYA², O.V. NAKONECHNAYA² (¹Institute of Automation and Control Processes, FEB RAS, Vladivostok, ²Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok, ³Far Eastern Federal University, Vladivostok).

Secondary plant metabolites are unique sources for pharmaceuticals, food additives and industrially important biochemicals. The accumulation of such metabolites occurs in plants affected by stress. The paper deals with the effect

*КУЛЬЧИН Юрий Николаевич – академик РАН, доктор физико-математических наук, профессор, научный руководитель (Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Владивосток; Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), БУЛГАКОВ Виктор Павлович – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, главный научный сотрудник (Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток), СУББОТИН Евгений Петрович – кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник, ГОЛЬЦОВА Дарья Олеговна – младший научный сотрудник, ХОЛИН Александр Сергеевич – младший научный сотрудник (Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Владивосток), ЛЯХОВА Людмила Павловна – кандидат физико-математических наук, доцент (Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), СУББОТИНА Наталья Ивановна – младший научный сотрудник (Институт автоматизации и процессов управления ДВО РАН, Владивосток), ГАФИЦКАЯ Ирина Викторовна – ведущий инженер, ГРИГОРЧУК Валерия Петровна – научный сотрудник, БУРКОВСКАЯ Елена Викторовна – научный сотрудник, ХРОЛЕНКО Юлия Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ОРЛОВСКАЯ Ирина Юрьевна – ведущий инженер, НАКОНЕЧНАЯ Ольга Валериевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник (Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток). *E-mail: kulchin@iacp.dvo.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-16-00016).

*of abiotic stress, which caused by the spectral composition binary change of radiation produced by matrix LED light sources, to the development and production of secondary metabolites in rocket *Eruca sativa* with protected cultivation. The obtained results showed the dominant «blue» and «red» spectral ranges intensities correlation influence in binary switching light fluxes. The conditions were defined when the accumulation of plant biomass and the plants root system development significantly exceed control measures. The compromise was defined between the qualitative characteristics of the light flux and the inflicted binary spectral stress with an increase of the fresh mass of plants at the simultaneous synthesis of such secondary metabolites as an ascorbic acid and flavonoids.*

Key words: biophotonics, artificial lighting, spectrum, plants, chemical composition.

Введение

Человечество на протяжении веков борется с вирусными инфекциями и онкологическими заболеваниями. Сегодня около 90 % инфекционной патологии человека вызвано вирусами. В мире от острых вирусных инфекций ежегодно погибает от 10 до 14 млн чел. [25] и отмечается рост онкологических заболеваний. Смертность от рака составляет 20 % общего числа умерших, а это ни много ни мало более 8 млн чел. в год. Более того, число заболевших раком растет ежегодно на 1,5 % [1].

На данный момент разработано множество противовирусных препаратов и вакцин, которые, однако, не всегда оказываются действенными. Поэтому поиск новых противовирусных средств представляется чрезвычайно актуальным.

Одним из действенных средств борьбы с вирусными заболеваниями считается укрепление иммунитета человеческого организма, что достигается потреблением растений и плодов с повышенным содержанием полезных вторичных метаболитов. Целебные свойства растений обусловлены содержащимися в них биологически активными веществами – алкалоидами, гликозидами, сапонинами, танинами, ферментами, витаминами, гормонами, фитонцидами [3]. Эти биологически активные вещества являются результатом процессов вторичного метаболизма растений и способны не только нормализовать состояние отдельных органов, но и оказывать мягкое, без побочных эффектов, комплексное воздействие на организм человека, а также регулировать его жизненные функции. Поэтому особую актуальность приобретает задача обеспечения населения полезными продуктами питания с более высоким содержанием вторичных метаболитов, обладающих свойствами повышать иммунитет человека.

Как правило, биологически активные вещества содержатся в быстро делящихся клетках растений и имеют уникальные регуляторные свойства [7]. В нормально развивающихся растениях существует баланс между продуктами первичного и вторичного метаболизма. В отличие от первичных, вторичные метаболиты представляют собой второстепенные химические вещества в растениях и встречаются в низких концентрациях. Они не являются необходимыми для жизни растения, но играют важную роль в их приспособляемости к условиям среды [18]. Количество вырабатываемых вторичных метаболитов зависит от интенсивности воздействия на растения разнообразных биотических и абиотических стрессовых факторов. Стремление обеспечить гарантированные объемы и качество растительных продуктов питания заставляет сегодня сельскохозяйственную отрасль переходить к выращиванию растений в защищенных условиях. Синтез растениями вторичных метаболитов обычно усиливается под воздействием внешнего стресса (изменений окружающей среды). В то же время отсутствие стрессов у растений, развивающихся в защищенных условиях, снижает уровень и спектр производимых ими вторичных метаболитов [22]. Поэтому чрезвычайно важным является создание эффективных стратегий и технологий выращивания растений в защищенных условиях, позволяющих управлять содержанием и выходом целевых вторичных метаболитов путем контролируемого абиотического стрессового воздействия.

Известно, что продуцирование растениями вторичных метаболитов запускается широким спектром абиотических факторов – засухой, засолением, световым излучением,

температурой и др. [20]. При этом свет, как главный источник энергии для фотосинтеза и управления растениями, является одним из важнейших абиотических факторов [21]. Основу процесса светового управления развитием растений и синтезом в них вторичных метаболитов составляет фоторецепция света [9]. Фоторецепторы связаны с сигнальными путями в клетках растений и при их активировании фотонами приводят к изменениям экспрессии генов. Светопоглощающие свойства клеток растений определяются комбинациями фоторецепторных белков и хромофоров [15, 24]. В результате, изменяя качество света, можно влиять на естественные защитные механизмы растений, культивируемых в защищенной среде, и тем самым управлять производством вторичных метаболитов. На современном этапе именно эти вопросы привлекают пристальное внимание большого числа исследователей [11, 17].

Люминесцентные лампы на протяжении десятков лет широко используются в тепличных хозяйствах. В последнее время на смену им приходят светодиодные источники излучения, которые обладают целым рядом полезных качеств, включая их спектральный состав, длительный срок службы, широкий и легко управляемый диапазон изменения длины волны излучения, а также высокий коэффициент полезного действия [12–14]. Как показано ранее [16], использование матриц из светодиодов позволяет создавать источники освещения с управляемым спектральным диапазоном, интенсивностью и фотопериодом. Это делает их перспективными в управлении процессами вторичного метаболизма растений, культивируемых в защищенных условиях.

Хорошо известно, что образующийся в растениях витамин С обладает противовирусным действием. Он играет важнейшую роль в реакции человеческого организма на стресс, и его применение дает положительные результаты при профилактике и лечении больных коронавирусной инфекцией. Многочисленными исследованиями доказано, что нарабатываемый в растениях вторичный метаболит – кверцетин (витамин Р) – также имеет противовирусные, противовоспалительные и антиоксидантные свойства. Более того, совместное использование витамина С и кверцетина усиливает противовирусные и иммуномодулирующие свойства этих веществ, повышая эффективность их действия [6, 26].

Сегодня в пищевой промышленности широко используется универсальная салатная зелень – рукола (*Eruca sativa* Mill., Brassicaceae). Ее фармацевтическая ценность определяется содержанием в ней алкалоидов, флавоноидов, витаминов С и В. Она также богата йодом, железом, калием, кальцием, магнием, содержит яблочную и лимонную кислоты, горчичное масло и стероиды¹. Как видим, рукола представляет собой ценный источник питания, регулярное потребление которого должно способствовать повышению иммунитета человека. Она круглогодично выращивается в тепличных хозяйствах, поэтому создание технологии, обеспечивающей повышенное содержание в салате полезных вторичных метаболитов, является чрезвычайно важным. В связи с вышеизложенным цель настоящей работы – исследовать возможности изменения содержания витаминов С и Р в растениях *E. sativa*, выращиваемых в условиях закрытого грунта, при изменении спектра искусственного светодиодного освещения в процессе вегетации.

Экспериментальный материал и методы исследований

Наши исследования были направлены на изучение процесса дифференциального накопления в растениях вторичных метаболитов (витаминов С и Р) в ответ на изменяющееся мультиспектральное широкополосное светодиодное облучение. В качестве объекта исследования были выбраны растения салата рукола (*E. sativa*) сорта Диковина. Это распространенный среднеспелый сорт, холодоустойчивый, влаголюбивый, долго

¹ <https://optolov.ru/dizajjn-koridora/rukkola-luchshie-sorta-polza-rukoly-dikaya-rukola-selekcionnye-sorta-sorta.html> (дата обращения: 05.03.2021).

сохраняющий пищевые качества, его часто выращивают в теплицах². Растения культивировали в грунте со следующими агрохимическими характеристиками:

рН водн. – 7,5,

Органическое вещество – 33,7 %,

Содержание химических элементов: N = 2,8%, P = 0,28 %, K = 0,50 %,

Влажность – 47,4 %,

Зольность – 66,3 %,

N-NO₃ – 10,2 мг/кг,

P (водн.) – 170,0 мг/кг,

K (водн.) – 73,5 мг/кг.

Руколу выращивали в сконструированных в ИАПУ ДВО РАН фитобоксах с 16-часовым дневным фотопериодом, автоматическим поддержанием температуры 21 ± 2 °С и влажности воздуха 70 ± 5 %, расстоянием до источника света – 0,8 м. Площадь фитобокса – 1 м². Внутри фитобоксов обеспечивалась свободная циркуляция воздуха. Детали эксперимента приведены в работе [5].

Источником света служили матричные излучатели с регулируемой интенсивностью и спектром светового потока [4]. В нашем случае это LED-источники света со спектрами излучения трех типов, условно обозначаемых как СК (синий–красный), СЗК (синий–зеленый–красный) и Р (солнечный, разноцветный). В качестве контрольного облучателя использовался светодиодный светильник теплого белого света с цветовой температурой 3500 К (обозначен как ТБ). Спектральная зависимость интенсивности световых потоков для используемых источников излучения приведена на рис. 1. Там же для сравнения показаны спектральные характеристики солнечного света, измеренные в облачный день.

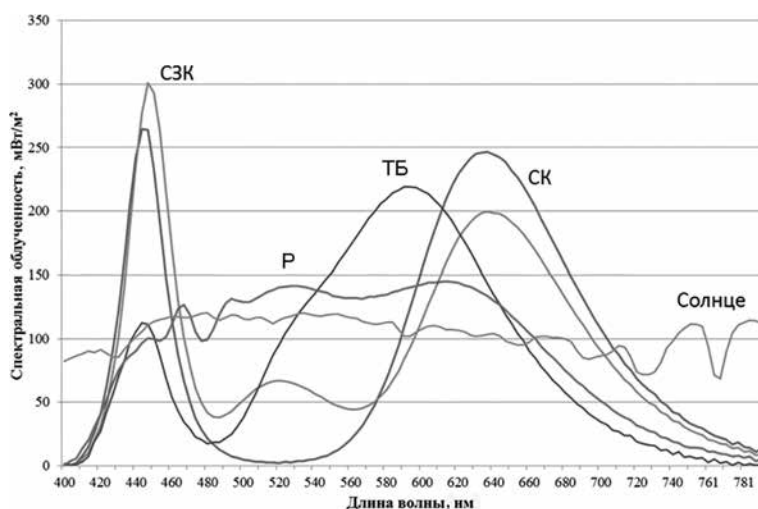


Рис. 1. Спектральные зависимости световых потоков используемых в эксперименте источников излучения и Солнца

Как видно из рис. 1, все четыре источника излучения в спектральном интервале от 440 до 700 нм имеют одинаковое интегральное значение потока излучения на уровне интенсивности светового потока 0,5, но разную его спектральную плотность в пределах указанного диапазона длин волн. Для удобства сравнения весь спектральный диапазон излучения условно разбивается на три поддиапазона: «синий» (400–500 нм), «зеленый» (500–600 нм) и «красный» (600–700 нм).

² <https://optolov.ru/dizajjn-koridora/rukkola-luchshie-sorta-polza-rukoly-dikaya-rukola-selekcionnye-sorta-sorta.html> (дата обращения: 05.03.2021).

Матричный LED-источник света СК имеет два ярко выраженных спектральных максимума примерно одинаковой амплитуды в окрестности длин волн 440 и 640 нм и минимальный уровень интенсивности излучения в других спектральных диапазонах. Источники света такого спектра наиболее часто используются в теплицах со светодиодным освещением.

Для матричного LED-источника излучения СЗК прослеживается два основных максимума излучения в окрестности длин волн 440 и 640 нм, но присутствует и дополнительный спектральный пик на длине волны 520 нм, соответствующий «зеленой» части спектра излучения. При этом интенсивность светового потока в «зеленой» области спектра существенно отличается от интенсивности светового потока для источника СК, тогда как в «красной» и «синей» спектральных областях различия менее значительны.

Матричный LED-источник света Р в спектральном диапазоне 440–660 нм имеет достаточно равномерное распределение интенсивности светового потока. Для данного источника света интенсивность потока излучения в «красном» и «зеленом» спектральных поддиапазонах максимально отличается от интенсивностей потоков излучения для СК- и СЗК-источников света. Из всех исследованных источников он наиболее близок к солнечному излучению.

Соотношение интенсивностей потоков излучения внутри спектральных поддиапазонов «синий»–«зеленый»–«красный» для используемых матричных LED-источников света приведено в табл. 1. Там же для сравнения даны интенсивности потоков излучения Солнца в соответствующих спектральных диапазонах в облачный летний день, измеренные спектрофотометром «ТКА-Спектр» (НТП «ТКА», Россия) в точке с географическими координатами 43°6'30" с.ш. 135°42'34" в.д., на высоте над уровнем моря 12–18 м.

Таблица 1

Спектральное распределение интенсивностей световых потоков матричных LED-источников светового излучения

Параметр	Единица измерения	Тип светильника				Солнце в облачный день
		Р	СЗК	СК	ТБ	
Максимальная потребляемая электрическая мощность	W_{max} (Вт)	280	320	300	300	
Общая ФАР облученность в диапазоне 400–700 нм	E_e (PAR), Вт/м ²	33,1	32,4	31,6	31,4	32
	Общая облученность, %	100	100	100	100	100
Спектральная облученность						
в синем диапазоне (400–500 нм)	E_e (PAR), Вт/м ²	8,4	10,3	8,5	4,5	10,5
	Доля в общей облученности, %	25,4	31,8	26,9	14,3	32,8
	Отличие от солнечного света, %	20,0	1,9	19,0	57,1	0,0
в зеленом диапазоне (500–600 нм)	E_e (PAR), Вт/м ²	13,6	6,2	3,4	15,0	11,4
	Доля в общей облученности, %	41,1	19,1	10,8	47,8	35,6
	Отличие от солнечного света, %	19,3	45,6	70,2	31,6	0,0
в красном диапазоне (600–700 нм)	E_e (PAR), Вт/м ²	11,1	15,9	19,7	11,9	10,1
	Доля в общей облученности, %	33,5	49,1	62,3	37,9	31,6
	Отличие от солнечного света, %	9,9	57,4	95,0	17,8	0,0

Данные табл. 1 позволяют сравнить эффективность излучения светового потока в трех спектральных областях разных типов облучателей, сопоставить их эффективность по потребляемой электрической мощности. Кроме того, эти данные показывают степень соответствия излучаемого светового потока натуральному солнечному свету, к которому генетически адаптированы все зеленые растения.

Таким образом, в нашем распоряжении имелся набор из трех разных матричных LED-источников света с различным спектральным распределением интенсивности светового потока, что позволило обеспечить в эксперименте 9 разных сценариев освещения для изучения влияния бинарного изменения спектра облучения на развитие растений руколы и накопление ими вторичных метаболитов.

На практике трудно разделить эффекты от фотосинтетических пигментов, поскольку они все поглощают свет в красной и синей областях светового спектра. Как правило, для активации фоторецепторов растениями используется лишь небольшая часть поглощенных фотонов по сравнению с фотонами, используемыми в процессе фотосинтеза [2]. Поэтому в нашем случае было принято решение проводить исследование при низких уровнях освещенности, когда фотосинтетический аппарат растений заведомо не находится в режиме насыщения. Этому требованию удовлетворяет общая ФАР облученность в 31–33 Вт/м². Кроме того, известен эффект влияния низкого уровня светового потока на рост растений и фотоморфогенез. В частности, это приводит к увеличению площади листа и высоты растений [8, 23]. В связи с этим в наших экспериментах интегральное значение облученности растений фотосинтетически активной радиацией для контроля и всех матричных LED-источников излучения было постоянным и в среднем составляло 32 Вт/м².

В эксперименте после прорастания семян все растения в течение 14 дней выращивали в фитобоксах при неизменной экспозиции облученности в соответствии со спектрами матричных LED (Р, СЗК и СК). Далее треть растений продолжали культивировать в фитобоксах со светодиодным освещением при неизменных условиях освещения. Оставшиеся 2/3 растений в равных пропорциях перемещали в фитобоксы с другими спектрами облученности, что приводило к стрессу у растений в ответ на смену спектра. Перед сменой источника облучения осуществляли промежуточное измерение морфометрических показателей растений. Длительность эксперимента составила 6 недель. В конце эксперимента мы имели группы растений, выращенных при неизменных условиях светодиодного освещения, обозначенные как Р, СЗК, СК, и в комбинациях с бинарным изменением спектра светодиодного освещения, обозначенных как Р-СЗК, Р-СК, СЗК-Р, СЗК-СК, СК-СЗК, СК-Р. Условия для выращивания контрольной группы растений оставляли неизменными – освещение светодиодным светильником теплого белого света.

Для определения влияния бинарного переключения спектра на развитие растений измеряли следующие морфометрические показатели: сырую и сухую массу побега и корней [5], число листьев, высоту гипокотыля, площадь всех листьев. Морфометрические измерения и анализ вторичных метаболитов проводили в Федеральном научном центре биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН). Влияние спектрального стресса на накопление растениями вторичных метаболитов оценивали по содержанию аскорбиновой кислоты и флавоноидов.

Вторичные метаболиты определяли с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным (Agilent 1260 Infinity, США) и масс-спектрометрическим (Bruker HCT ultra PTM Discovery System, Bruker Daltonik GmbH, Бремен, Германия) детектированием. Элюирование проводили на колонке Zorbax C18 (150*2,1 мм, 3,5 мкм, Agilent, США) со скоростью потока растворителей 0,2 мл/мин. Содержание аскорбиновой кислоты в образцах рассчитывали методом внешнего стандарта, с использованием стандартного образца L-Ascorbic acid 99 % (Sigma, США). Состав флавоноидов оценивался на основании изучения хроматографического поведения, профилей фрагментации депротонированных молекул и УФ-спектров поглощения. В качестве основных соединений флавоноидной природы были определены моно- и диглюкозиды кверцетина, кемпферола и изорамнетина. Пересчет содержания отдельных флавоноидов на кверцетин производился методом абсолютной градуировки с использованием Quercetin 95 % – HPLC (Sigma-Aldrich, США) в качестве стандартного образца.

Полученные данные обрабатывали с использованием пакета программ Microsoft Office Excel и STATISTICA.

Результаты и обсуждение

Обычно световой стресс у растений вызывается их облучением ультрафиолетовым светом [10]. В нашем эксперименте мы использовали только тот спектральный диапазон излучения, который наиболее широко применяется в источниках света в тепличных хозяйствах. В связи с этим в наших экспериментах ультрафиолетовое излучение отсутствовало, а уровень «синего» светового потока для всех матричных LED-источников оставался практически неизменным и варьировал в небольших пределах – от 8,4 до 10,3 Вт/с². Данные о морфометрических параметрах растений в конце эксперимента приведены в табл. 2.

Таблица 2

Морфометрические параметры *E. sativa* при бинарном переключении света после 6 недель культивирования растений

Параметр	ТБ	Р	СЗК	СК	Р-СЗК	СЗК-Р	Р-СК	СК-Р	СЗК-СК	СК-СЗК
Высота гипокотыля, см	2,08	1,90	2,02	1,60	1,87	1,82	1,88	2,01	2,02	1,71
Число листьев	6,11	6,10	6,20	6,22	6,40	6,20	6,70	6,30	6,70	6,40
Площадь всех листьев, см ²	68,88	68,90	83,05	67,88	81,35	88,37	66,04	74,18	80,87	89,23
Сырая масса надземной части, г	1,79	1,80	2,12	1,79	2,12	2,17	2,15	2,08	1,99	2,06
Сырая масса корней, г	0,30	0,22	0,37	0,25	0,39	0,19	0,35	0,16	0,36	0,26
Сухая масса надземной части, г	0,36	0,37	0,41	0,39	0,43	0,44	0,52	0,42	0,45	0,43
Сухая масса корней, г	0,06	0,05	0,07	0,05	0,08	0,04	0,08	0,04	0,07	0,07

Анализ морфометрических показателей растений, культивированных под разными спектрами, показал, что у растений группы СЗК-СК произошло вытягивание гипокотыля. Для этих растений фиксируется максимальная высота гипокотыля на фоне остальных вариантов, кроме контрольного (ТБ). Минимальные значения длины гипокотыля были у растений групп СК и СК-СЗК. Наибольшее число листьев имели растения групп Р-СК и СК3-СК. По максимальной площади всех листьев выделялись группы СК-СЗК и СЗК-Р, в то время как минимальные значения этого показателя отмечены у группы Р-СК. Самые большие значения сырой массы выявлены у растений группы СЗК-Р, а минимальные – у растений группы СК. В то же время сухая масса надземной части максимальной была у растений группы Р-СК. По сухой массе корней выделялись растения группы Р-СЗК и Р-СК.

При обработке массива всех параметров с использованием элементов многомерного анализа установлены определенные тенденции. По каждому морфометрическому показателю выделено максимальное значение, которое достигается при определенных вариантах освещения, и вычислено процентное отклонение значений относительно этого максимума (табл. 3).

При неизменных условиях освещения (группы ТБ, Р, СЗК, СК), когда растения руколы не испытывают световой стресс, наименьшая сумма отклонений от максимальных значений отмечена при использовании источника света СЗК. Вариантом освещения с наибольшей суммой отклонений является СК-спектр. При изменении спектра освещения в процессе вегетации растения входят в состояние стресса, что проявляется в отклонении морфометрических параметров от случая, когда спектр света не изменялся. При этом наименьшее отклонение от максимальных значений имеют растения спектра Р-СЗК, которое почти в 1,5 раза ниже, чем при использовании СЗК-спектра. Физически это означает, что при первоначальном освещении руколы источником Р (свет, подобный солнечному, в диапазоне длин волн 430–670 нм, см. рис. 1), а затем при резком переходе на вариант

Отклонение значений от максимальных средних значений морфометрических показателей, %

Параметр	ТБ	Р	СЗК	СК	Р-СЗК	СЗК-Р	Р-СК	СК-Р	СЗК-СК	СК-СЗК
Высота гипокотилия	0	5,44	0,96	23,20	10,24	12,64	9,76	3,52	3,04	17,92
Число листьев	8,79	8,96	7,46	7,13	4,48	7,46	0,00	5,97	0	4,48
Площадь всех листьев	22,80	22,78	6,92	23,93	8,83	0,96	25,98	16,86	9,37	0
Сырая масса надземной части	17,06	16,71	2,04	17,26	1,97	0	0,31	3,83	7,79	4,61
Сырая масса корней	23,10	43,59	5,34	35,98	0	50,95	10,12	59,50	7,89	33,91
Сухая масса надземной части	29,53	29,12	20,57	24,99	17,16	15,51	0	19,17	12,25	17,41
Сухая масса корней	26,32	34,90	19,59	38,87	0	51,17	5,63	51,66	17,41	13,76
Сумма процентных отклонений	127,6	163,42	62,89	171,36	42,68	138,7	51,8	160,5	57,75	92,09

освещения СЗК (световой поток с тремя пиками на длинах волн 440, 520, 640 нм, см. рис. 1) все морфометрические параметры стремятся к максимальным значениям, при этом сумма процентных отклонений равна 42,68 (табл. 3). Аналогичный результат дает вариант Р-СК, для которого сумма процентных отклонений составляет 51,8. При таком варианте форма спектра облучения начинается с максимально гладкой и приближенной к солнечному излучению и заканчивается сильным провалом в центре, что говорит об обедненности спектра. В варианте освещения СЗК-СК значение отклонения выше, чем при варианте освещения Р-СЗК, но ниже, чем при СЗК-спектре освещения в течение всего вегетационного периода. Интересно отметить, что освещение растений руколы светом, изменяющим свой спектр от более бедного к более наполненному, приводит к бóльшим значениям процентных отклонений, чем при изменении спектра от более полного к более бедному. Это видно из сравнения сумм процентных отклонений при вариантах освещения Р-СЗК и СЗК-Р, Р-СК и СК-Р, СЗК-СК и СК-СЗК. По степени близости качества рассмотренных источников света к натуральному солнечному излучению все три источника можно расположить в следующем порядке: Р, СЗК, СК. При смене спектров процентное отклонение показателей имеет наименьшие значения при вариантах освещения Р-СЗК, Р-СК, СЗК-СК, наибольшие – при вариантах СК-Р, СЗК-Р, СК-СЗК.

В качестве одного из параметров для характеристики реакции растений на смену спектра освещения нами была выбрана сырая масса растения. На рис. 2 приведена гистограмма, иллюстрирующая изменение сырой массы растения, его надземной части и корней при различных спектрах облучения. В экспериментах с растениями, выращенными при неизменных спектрах облучения, наращивание сырой массы более интенсивно происходит в случаях, когда в спектрах источников излучения преобладает «красная» компонента – СЗК. В этом случае весовые показатели выше тех, что получены при использовании источника излучения Р, спектральный состав которого наиболее приближен к спектру излучения Солнца в полуденные часы.

При переходе от спектров СЗК и СК к спектру Р отмечается замедление накопления массы растениями и снижение массы корней. При обратном переходе от спектра Р к спектрам СЗК и СК, напротив, происходит рост массы растений и корней. В случае перехода Р-СЗК наращивание сырой массы растениями связано с увеличением в световом потоке доли «красного» и снижением доли «зеленого» излучения в практически равных пропорциях. При переходе СК-СЗК незначительно уменьшается доля «красного» и существенно возрастает доля «зеленого» излучения. Бинарное изменение спектра излучения при переходе к источнику Р сопряжено со скачкообразным изменением потоков «красного» излучения в сторону уменьшения, а потоков «зеленого» – в сторону увеличения. В этом случае скорость накопления сырой массы растениями, ранее выращиваемыми под излучением

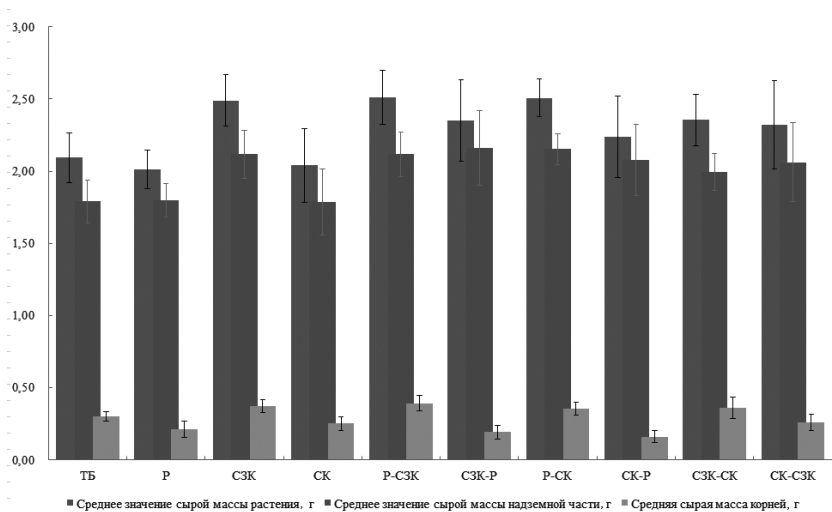


Рис. 2. Сырая масса корней, надземной части и целых растений *Eruca sativa*, выращенных при разных сценариях освещения

СЗК, уменьшается, а для растений, ранее выращиваемых под излучением СК, увеличивается.

На рис. 3 представлены результаты экспериментальных исследований вторичных метаболитов в растениях салата руколы, выращенных при разных сценариях освещения.

Из анализа рис. 3 следует, что, применяя разные сценарии освещения, можно управлять содержанием ценных вторичных метаболитов в растении. Появляется также возможность выращивания руколы с повышенным содержанием флавоноидов и более низким содержанием аскорбиновой кислоты, и наоборот. Например, при варианте освещения Р-СЗК соотношение содержание флавоноидов и аскорбиновой кислоты равно 88,7 %, т.е. является максимальным. В то же время при варианте освещения СК-СЗК отношение флавоноидов к аскорбиновой кислоте минимально и составляет 69,9 %.

Полученные результаты позволяют составить метаболический профиль реакций растений *E. sativa* на изменение спектра освещения. Эти данные показаны в табл. 4, которая иллюстрирует наблюдаемые изменения сырой массы растения Δm_{wet} по отношению

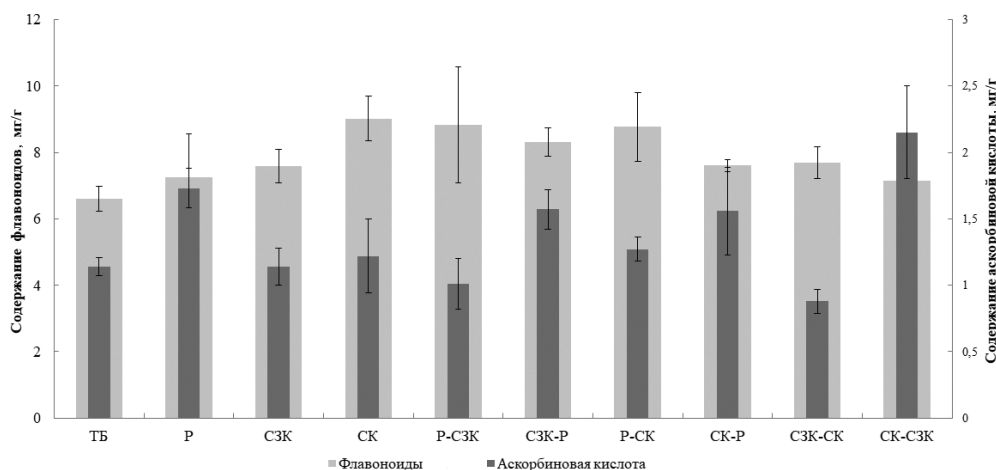


Рис. 3. Суммарное содержание флавоноидов в пересчете на кверцетин и содержание аскорбиновой кислоты в растениях *Eruca sativa*, выращенных при разных сценариях освещения

к массе растений, выращенных под контрольным освещением (m_{wetContr}), и массе растений, выращенных при неизменном спектре облучения (m_{wetMono}). Также показаны относительные изменения количества аскорбиновой кислоты (Δm_{vitC}) и флавоноидов (Δm_{Querc}), нарабатываемых в условиях контроля и при неизменном спектре облучения – $m_{\text{vitC Contr}}$, $m_{\text{Querc Contr}}$, $m_{\text{vitC Mono}}$, $m_{\text{Querc Mono}}$.

Таблица 4

Количественное проявление изменения характеристик качества растений, культивируемых при различных сценариях облучения

Параметры, %	P	СЗК	СК	P-СЗК	P-СК	СЗК-P	СЗК-СК	СК-P	СК-СЗК
$\Delta m_{\text{wet}}/m_{\text{wetContr}}$	-4	33	5	19	17	1	8	6	23
$\Delta m_{\text{wet}}/m_{\text{wetMono}}$				24	20	-24	-19	1	20
$\Delta m_{\text{vitC}}/m_{\text{vitC Contr}}$	51	0	8	-12	12	37	-22	37	86
$\Delta m_{\text{vitC}}/m_{\text{vitC Mono}}$				-42	-26	37	-22	27	71
$\Delta m_{\text{Querc}}/m_{\text{Querc Contr}}$	7	11	33	30	30	22	13	11	6
$\Delta m_{\text{Querc}}/m_{\text{Querc Mono}}$				21	21	10	2	-17	-21

Как видно из табл. 4, развитие растений под спектром излучения СЗК позволяет получить максимальные значения сырой массы растения в сравнении с контролем и растениями, выращенными под другими спектрами излучения. Но это излучение не является оптимальным для синтеза аскорбиновой кислоты: максимальная концентрация наблюдается при облучении спектром P. Максимальные концентрации флавоноидов выявлены при увеличении в спектре доли «красного» излучения и его преобладании над «синим» и «зеленым», что свойственно спектру излучения СК. При этом в сравнении с контрольным экспериментом спектральный состав излучения СК матричных LED-источников света позволяет добиться повышенного продуцирования аскорбиновой кислоты и флавоноидов в растениях салата рукола.

Создание бинарного спектрального стресса демонстрирует положительную динамику в наращивании растениями сырой массы при увеличении интенсивности потока «красного» спектра и изменении его соотношения с компонентой «синего» спектра, но приводит к сокращению накопления аскорбиновой кислоты при переходах P-СЗК, P-СК и СЗК-СК. Понижение уровня «красного» спектра, напротив, ведет к росту ее накопления, что наблюдается для сценариев СК-P и СК-СЗК. Связанный с увеличением потока «красного» излучения бинарный абиотический стресс вызывает повышенную выработку флавоноидов при смене спектров P-СЗК и P-СК. Резкое уменьшение потока «красного» света в вариантах СК-P и СК-СЗК приводит к снижению концентрации производимых растениями флавоноидов. В то же время действие бинарного переключения спектров излучения при синтезе флавоноидов для случаев СЗК-P и СЗК-СК не подтверждает отмеченную выше тенденцию. Это объясняется, видимо, влиянием «зеленого» спектра излучения, действие которого связано с компенсацией влияния потока «синего» излучения [11, 19].

При сравнении растений, культивируемых при смене спектра освещения, с растениями контрольной группы можно отметить, что смена спектра оказывает значительный эффект на развитие растений. Как следует из табл. 4, развитие растений по стрессовым сценариям (P-СК, СЗК-P, СК-P и СК-СЗК) показывает возможность увеличения сырой массы растениями *E. sativa* на 20 %, аскорбиновой кислоты – на 86 % и флавоноидов – на 30 %. Это открывает перспективы для создания технологии по выращиванию в защищенных условиях растений с повышенным содержанием полезных витаминов и вторичных метаболитов.

Выводы

В результате исследования влияния смены спектра освещения на развитие растений *E. sativa* и накопление ими вторичных метаболитов установлено, что бинарное изменение спектрального состава излучения в процессе вегетации растений, при небольших уровнях облученности, вызывает у них стрессовую реакцию, действие которой проявляется в изменении накопления сырой массы и продуцирования растениями вторичных метаболитов. При этом важное значение имеет соотношение интенсивностей световых потоков для соответствующих длин волн в спектральном составе используемого излучения. Соотношение между «синим» и «красным» спектральными диапазонами светового потока, создаваемого матричными LED-источниками излучения, его скачкообразная смена являются определяющими параметрами развития растений. Установлено, что наиболее благоприятными для выращивания салата *E. sativa* были варианты смены спектра Р-СЗК и Р-СК. В этих режимах удалось стимулировать как накопление сырой биомассы надземной части, так и развитие корневой системы.

Положенная в основу стратегии наших исследований способность растений чувствовать и реагировать на различные вариации светового излучения позволила выявить наличие взаимосвязи между качественными характеристиками потока светового излучения и бинарной сменой спектра освещения, вызывающей стресс, при котором происходит наработка сразу нескольких вторичных метаболитов без существенного снижения темпов развития растения.

Результаты исследования показали, что при вариантах освещения Р-СЗК и Р-СК не только увеличивается сырая масса растений, но и происходит более интенсивное накопление вторичных метаболитов (аскорбиновой кислоты и флавоноидов) в сравнении с другими исследованными вариантами. Разные варианты смены спектра освещения вызывают изменение процентного содержания аскорбиновой кислоты на фоне флавоноидов, но максимальное значение (30 %) достигается при варианте СК-СЗК.

Таким образом, результаты выполненных нами исследований демонстрируют возможность влияния на процессы первичного и вторичного метаболизма растений посредством смены качества спектра освещения, вызывающей у растений способность к увеличению морфометрических показателей и повышению накопления аскорбиновой кислоты и флавоноидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганцев Ш.Х. Онкология. М.: Мед. информ. агентство, 2006. 488 с.
2. Головацкая И.Ф. Морфогенез растений и его регуляция. Ч. 1. Фоторегуляция морфогенеза растений: учеб. пособие. Томск: Изд. дом Томского гос. ун-та, 2016. 172 с.
3. Кузьменко И.Н., Колясникова Н.Л. Лекарственные и ядовитые растения. Пермь: ПрокростЪ, 2019. 104 с.
4. Кульчин Ю.Н., Булгаков В.П., Гольцова Д.О., Субботин Е.П. Оптогенетика растений – светорегуляция генетического и эпигенетического механизмов управления онтогенезом // Вестн. ДВО РАН. 2020. № 1. С. 5–25.
5. Наконечная О.В., Грищенко О.В., Хроленко Ю.А., Булгаков В.П., Бурковская Е.В., Григорчук В.П., Прокуда Н.А., Холин А.С., Гафицкая И.В., Михеева А.В., Орловская И.Ю., Бурдуковский М.Л., Субботин Е.П., Кульчин Ю.Н. Влияние светодиодного освещения на морфогенез, содержание аскорбиновой кислоты, Р, К, Са в растениях *Eruca sativa* // Физиология растений. 2021. Т. 68, № 2. С. 194–205.
6. Новиков В.С., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б. Функциональное питание человека при экстремальных воздействиях. СПб.: Политехника-принт, 2017. 346 с.
7. Панабир в лечении вирусных инфекций / под ред. акад. РАМН проф. В.И. Сергиенко. М., 2005. 172 с.
8. Fan X.X., Xu Z.G., Liu X.Y., Tang C.M., Wang L.W., Han X.L. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light // Scientia Horticulturae. 2013. Vol. 153. P. 50–55.
9. Folta K.M., Carvalho S.D. Photoreceptors and control of horticultural plant traits // HortScience. 2015. Vol. 50. P. 1274–1280.
10. Idris A., Linatoc A.C., Abu Bakar M.F., Takai Z. Effect of light quality and quantity on the accumulation of flavonoid in plant species // J. Sci. and Technol. 2018. Vol. 10, N 3. P. 32–45.

11. Khurshid R., Ullah M.A., Tungmunnithum D. et al. Lights triggered differential accumulation of antioxidant and antidiabetic secondary metabolites in callus culture of *Eclipta alba* L. // PLoS ONE. 2020. Vol. 15, N 6. P. e0233963.
12. LED Lighting for urban agriculture/ eds T. Kozai, K. Fujiwara, E.S. Runkle. Singapore: Springer, 2016. 454 p.
13. Li H., Tang C., Xu Z. The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis *in vitro* // Scientia Horticulturae. 2013. Vol. 150. P. 117–124.
14. Massa G.D., Kim H.H., Wheeler R.M., Mitchell C.A. Plant productivity in response to LED lighting // Hort-Science. 2008. Vol. 43. P. 1951–1956.
15. Möglich A., Yang X., Ayers R.A., Moffat K. Structure and function of plant photoreceptors // Ann. Rev. Plant Biol. 2010. Vol. 61. P. 21–47.
16. Nakonechnaya O.V., Gafitskaya I.V., Burkovskaya E.V., Khrolenko Y.A., Grishchenko O.V., Zhuravlev Y.N., Subbotin E.P., Kulchin Y.N. Effect of light intensity on the morphogenesis of *Stevia rebaudiana* under *in vitro* conditions // Rus. J. Plant Physiol. 2019. Vol. 66, N 4. P. 656–663.
17. Ouzounis T., Rosenqvist E., Ottosen C.N. Spectral effects of artificial light on plant physiology and secondary metabolism: a review // HortScience. 2015. Vol. 50 (8). P. 1128–1135.
18. Pagare S., Bhatia M., Tripathi N., Pagare S., Bansal Y.K. Secondary metabolites of plants and their role: overview // Curr. Trends Biotechnol. Pharm. 2015. Vol. 9 (3). P. 294–305.
19. Pedroso R.C., Branquinho N.A., Hara A.C. et.al. Impact of light quality on flavonoid production and growth of *Hyptis marruboides* Epling seedlings cultivated *in vitro* // Revista Brasileira de Farmacognosia. 2017. Vol. 27. P. 466–470.
20. Pessarakli M., Haghighi M., Sheibanirad A. Plant responses under environmental stress conditions // Adv. Plants Agric. Res. 2015. Vol. 2 (6). P. 276–286.
21. Plant hormones under challenging environmental factors / eds G.J. Ahammed, J.-Q. Yu. Netherlands, Springer, 2016. 267 p.
22. Ramakrishna A., Ravishankar G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants // Plant Signaling Behav. 2011. Vol. 6 (11). P. 1720–1731.
23. Steinger T., Roy B.A., Stanton M.L. Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis* // J. evol. biol. 2003. Vol. 16, N 2. P. 313–323.
24. Thoma F., Somborn-Schulz A., Schlehuber D., Keuter V., Deerberg G. Effects of light on secondary metabolites in selected leafy greens: a review // Front. Plant Sci. 2020. Vol. 11. P. 497. DOI: 10.3389/fpls.2020.00497.
25. Viral infections of humans / ed. A.S. Evans. London: Plenum Med. Book Co, 1989. 829 p.
26. Zarubaeva V.V., Slita A.V., Lavrentyeva I.N., Smirnov V.S. Protective activity of ascorbic acid at influenza infection // Rus. J. of Infection and Immunity. 2017. Vol. 7, N 4. P. 319–326.