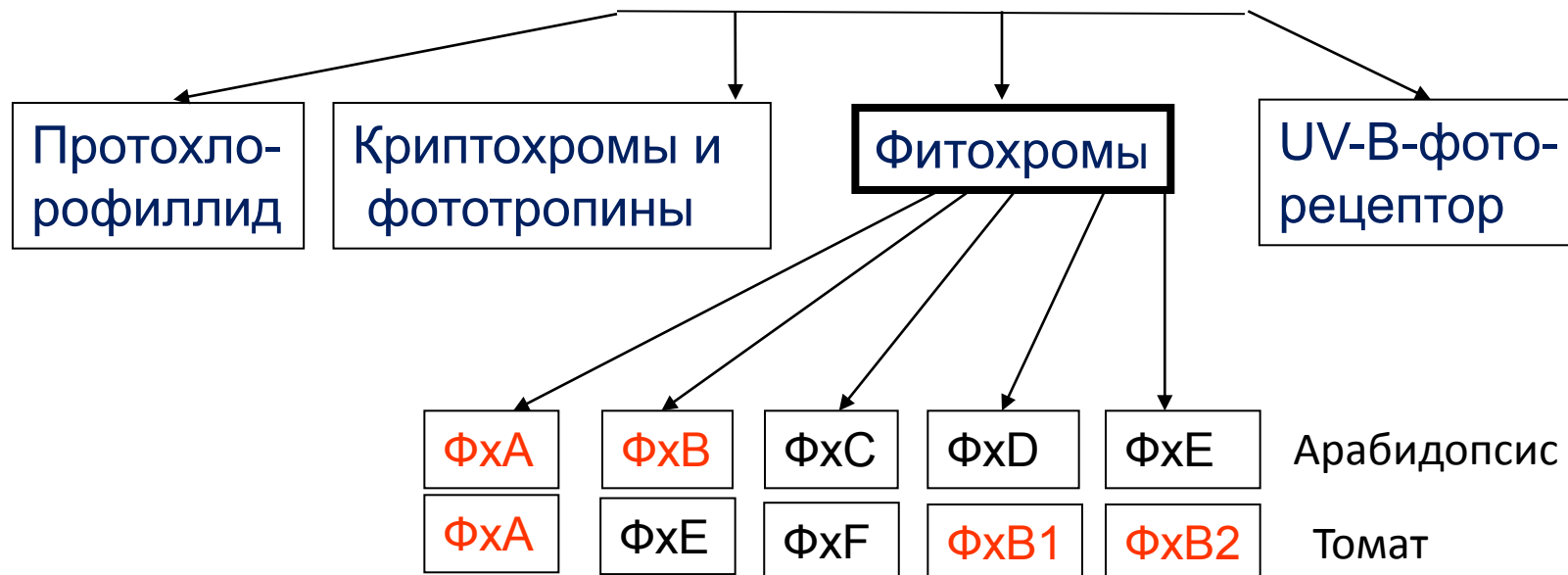


Влияние фитохромной системы на стресс-устойчивость фотосинтетического аппарата

Креславский В.Д.,
Худякова А.Ю.,
Любимов В.Ю.

- Институт фундаментальных проблем биологии РАН

Фоторецепторы



У томата их 5: ФхА, ФхВ1, ФхВ2, ФхЕ и ФхF. У арабидопсиса тоже 5: : ФхА, ФхВ, ФхС, ФхЕ и ФхD, у риса -3 типа.

Основные криптохромы (Кр): **Кр1** и **Кр2**.

Мы рассматриваем низкоэнергетические фитохром-контролируемые процессы (мкмоль квантов-сотни микромоль квантов). Их основной признак – максимум в спектре действия 660-670 нм и обратимость КС-ДКС.

Введение

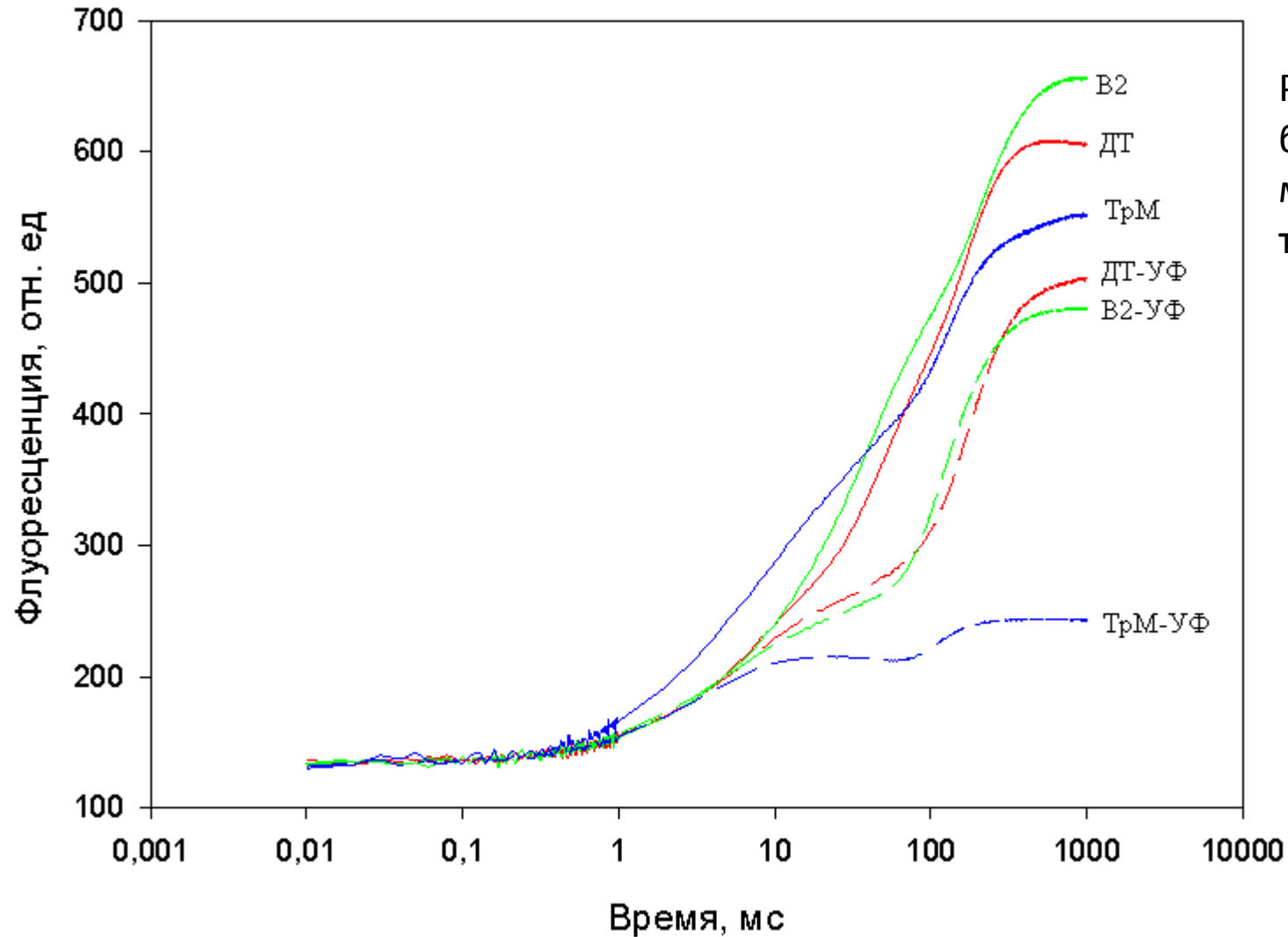
1. На основе полученных нами и литературных данных с использованием мутантов растений *A. thaliana*, дефицитных по фитохромам (*hy3*, *hy2*, *phyAphyB*) и мутантных растений томата развивается идея о том, что фитохромная система участвует в регуляции устойчивости и адаптации фотосинтетического аппарата к действию стрессовых факторов, в частности, таких как УФ-радиация и свет высокой интенсивности. Показано, что у мутантов меньшее содержание УФ-поглощающих пигментов, и антоцианов, пониженная активность ключевых антиоксидантных ферментов и более высокая скорость диссипации поглощенной энергии в тепло. У мутантов, дефицитных по фитохромам, при действии УФ-радиации индуцируется больше H_2O_2 в листьях по сравнению с ДТ. Разница по всем физиологическим показателям заметно больше, если растения выращивают на красном свете, где криптохромы не активны.

2. К возможным механизмам защитного действия фитохромной системы относятся накопление пигментов, поглощающих свет в УФ и видимой области, повышение активности антиоксидантных ферментов и содержания низкомолекулярных антиоксидантов, а также увеличение скорости диссипации энергии в тепло.

Предполагается, что фитохромная система вместе с криптохромами участвует в регуляции защитных механизмов ФА при высокой интенсивности света и повышенной доли УФ-Б радиации.

Фитохромная система и стрессоустойчивость фотосинтетического аппарата

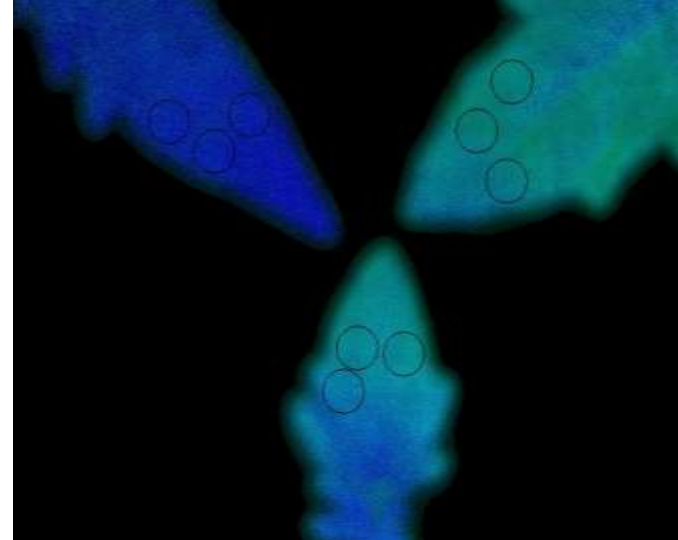
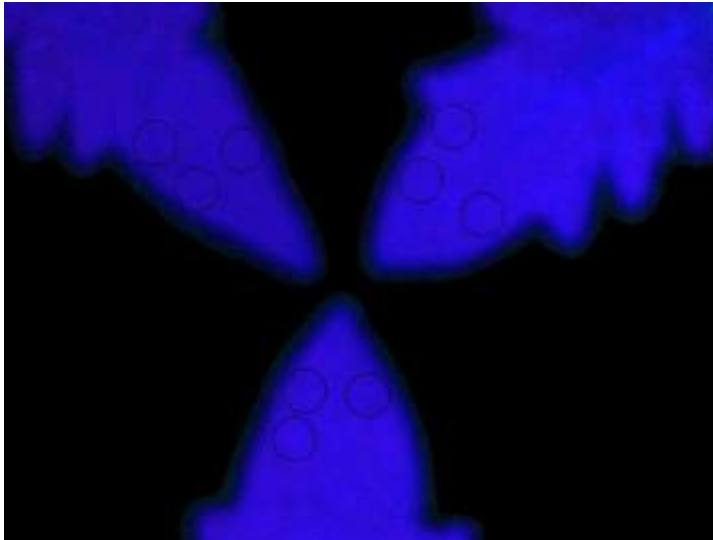
Изменение индукционных кривых флуоресценции Хл у томата дикого типа (ДТ) и мутантов: дефицитного по ФхВ2, а также по ФхВ1, ФхА и Кр1 (ТрМ), под влиянием света высокой интенсивности (2 ч)



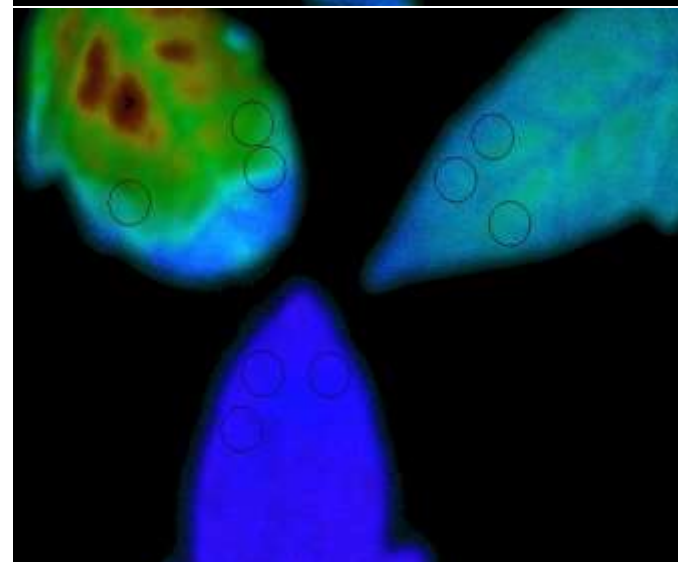
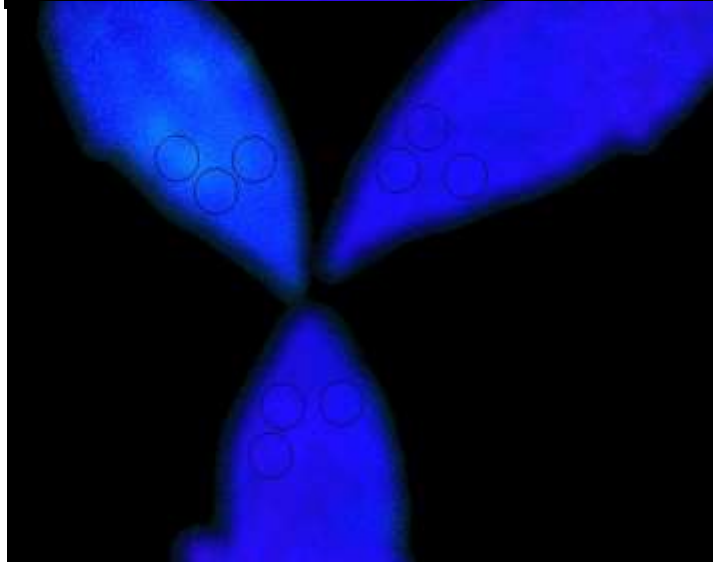
Вывод: самый чувствительный к СВИ я-тройной мутант (ФхВ1ФхАКр1)

Влияние 15 мин облучения светом высокой интенсивности (2 ч, 1000 мкмоль квантов) на максимальный фотохимический квантовый выход F_v/F_m мутантов томата, дефицитных по фитохромам B1, B2 и A, а также по криптохрому 1 (Kp1). До облучения – слева и после облучения - справа

слева
на право,
сверху вниз:
ДТ,
B2A,
B2



слева
на право
сверху
вниз:
B1AKp1,
B1AB2,
B1B2



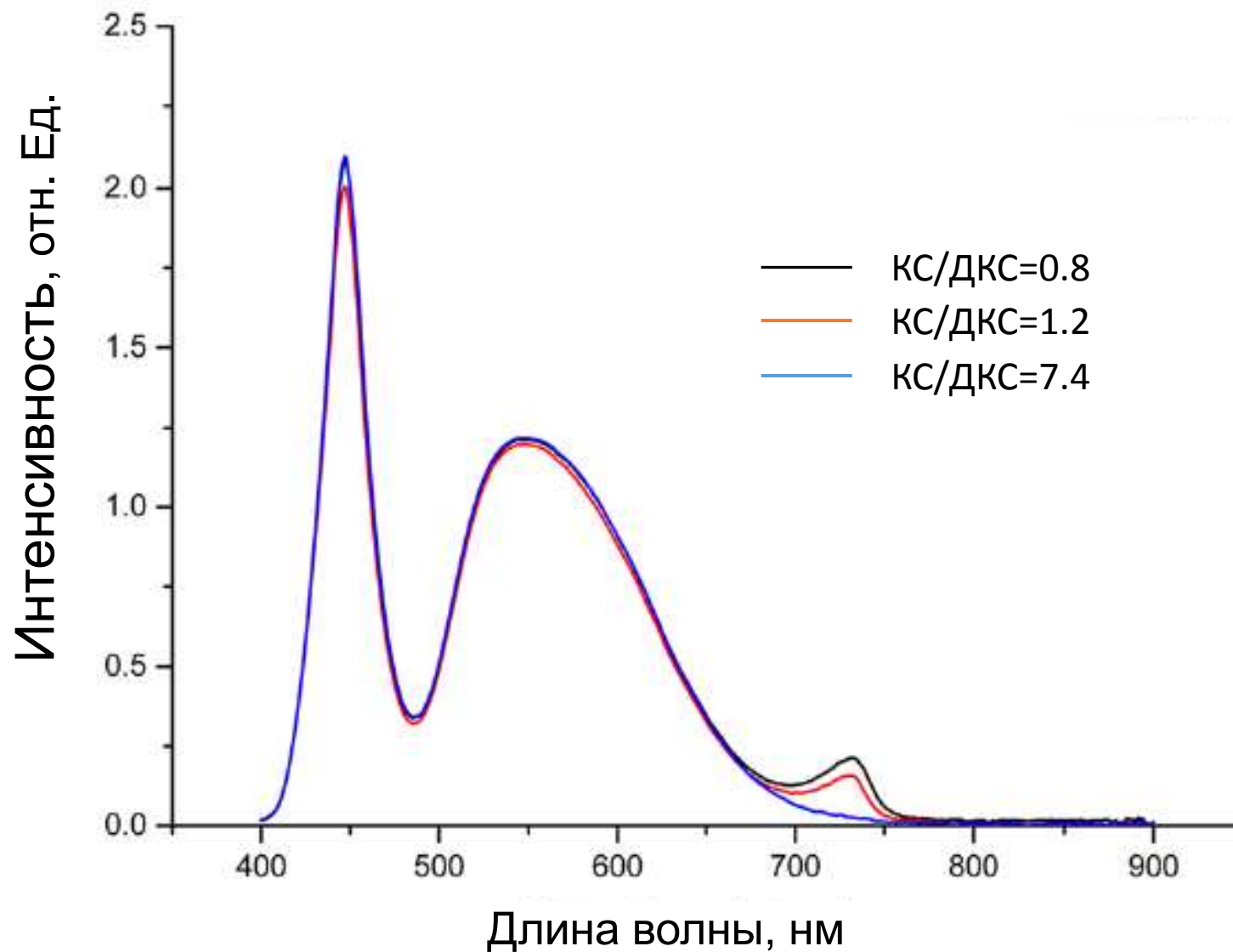
По параметру максимального квантового выхода самыми устойчивыми к облучению являются дикий тип и мутант B1B2: незначительное снижение показателя F_v/F_m не заметное на цветовой шкале. Тройной мутант B1AKp1 хуже всего перенес освещение. Хотя он и изначально был заметно хуже (белесые пятна).



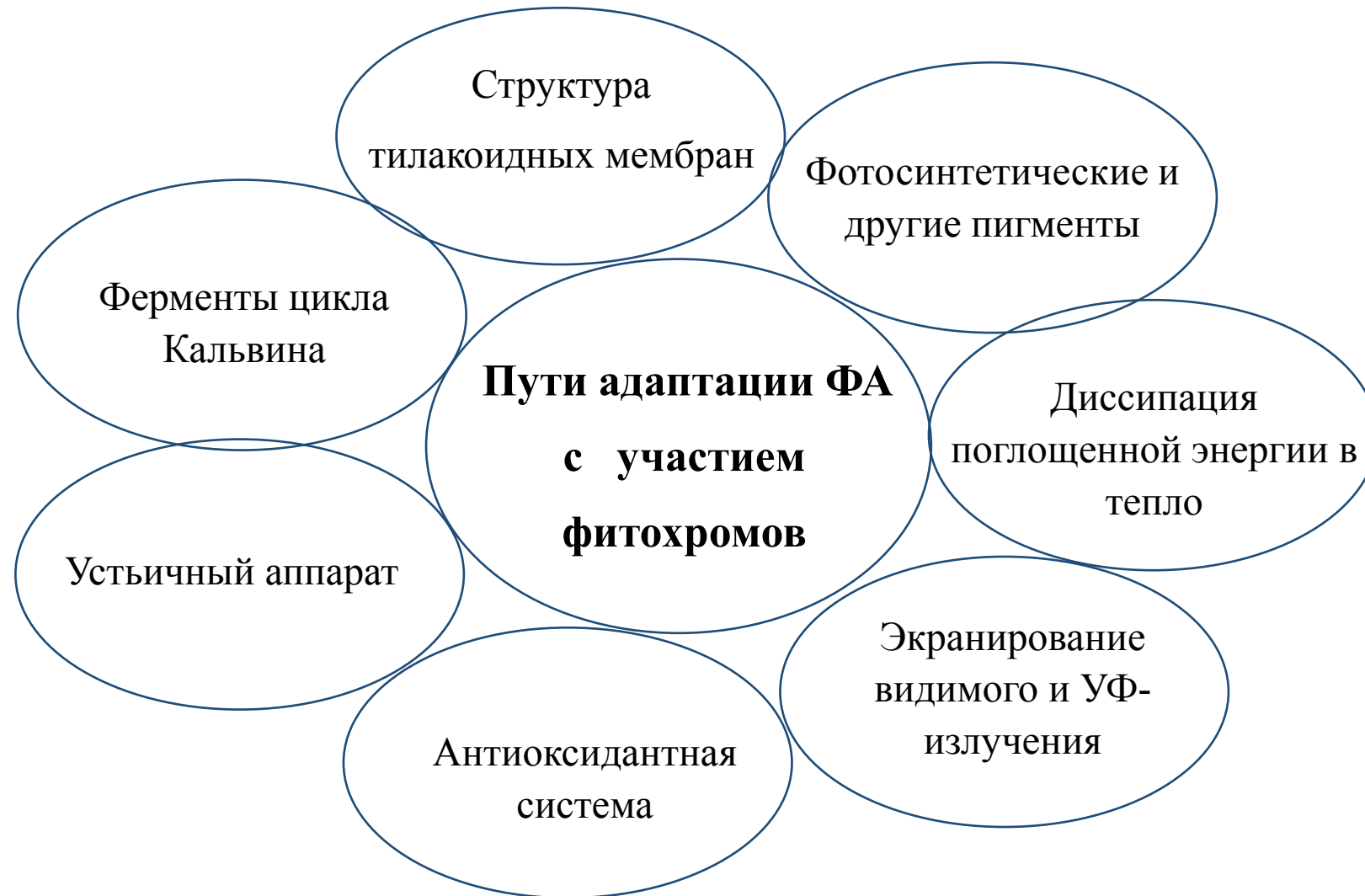
Зависимость сухой массы 20-дн. растений томата, выращенных при разных световых условиях от соотношения КС и ДКС и содержания фитохрома В1(Сао et al. 2018)

	КС/ДКС	7.4	1.2	0.8	+100 мг NaCl 8 дн.	7.4	1.2	0.8
					Дост.			
ДТ	С. Масса, г	1.68	2.34	2.11	Разница	0.82	1.23	1.68
Мутант					достов.			
PhyB1	С. Масса, г	1.52	1.53	1.47	Разница	0.92	0.98	0.97
					Недостов.			
ДТ	ETR	185	175	166		157	172	167
	Инт. =200 МКМОЛЬ							

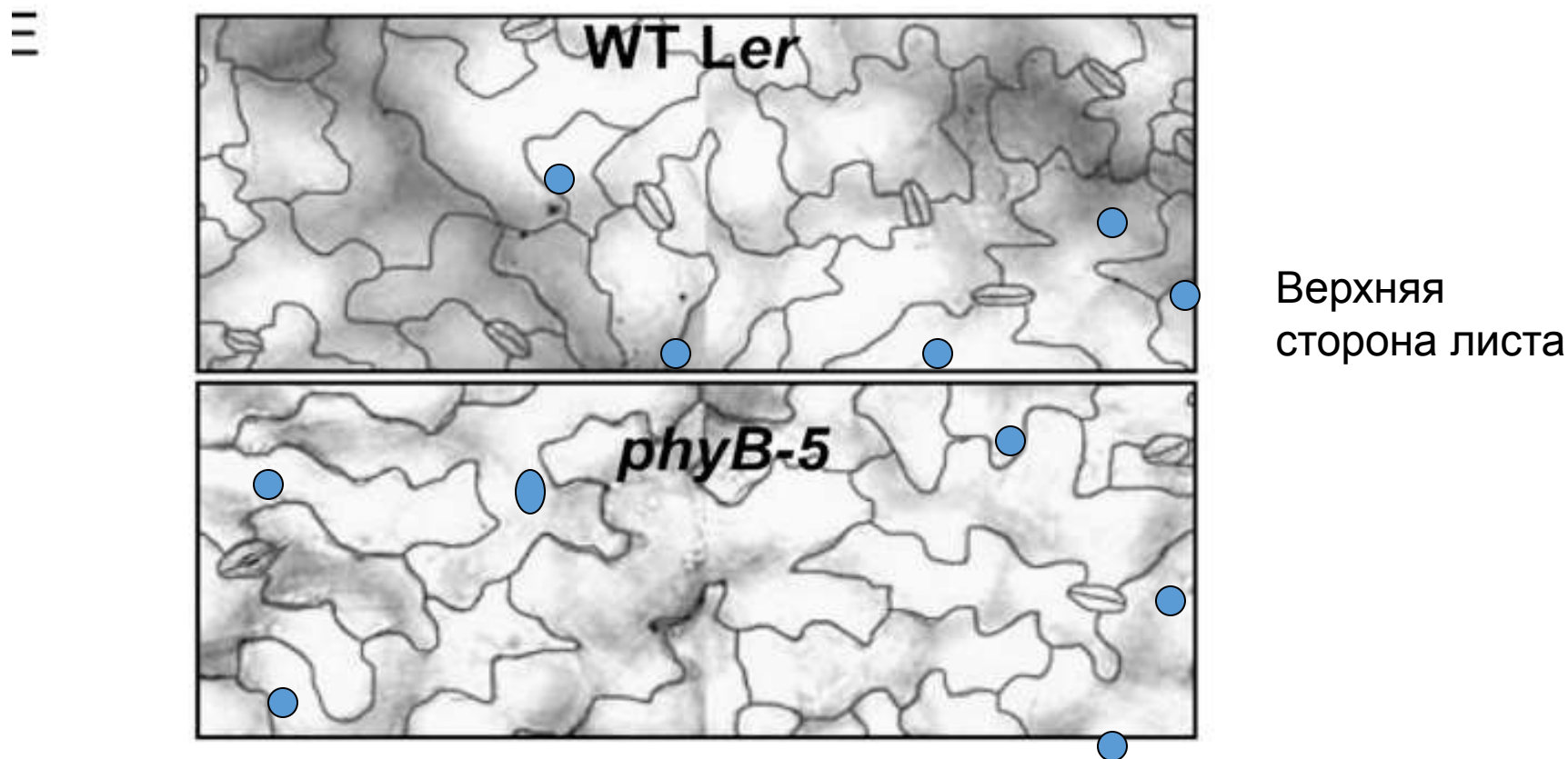
Спектр испускания светильника на основе белых светодиодов и ДКС светодиодов (730 нм) (Сао et al. 2018)



Основные пути адаптации фотосинтетического аппарата высших растений с участием фитохромов и криптохромов



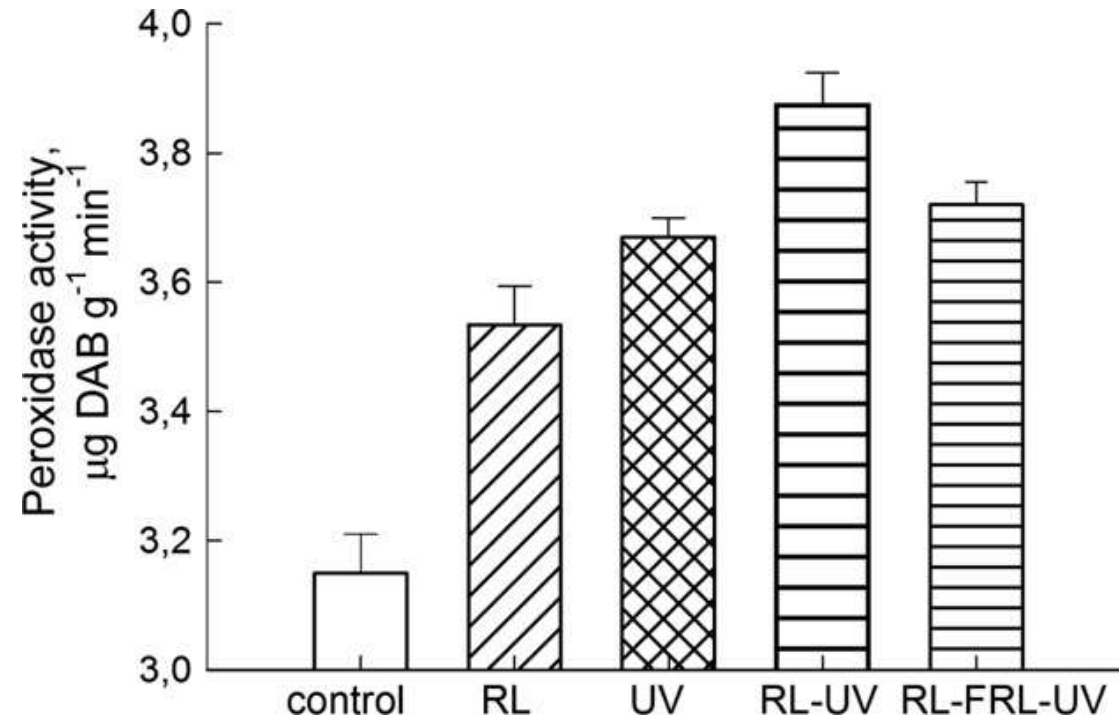
Верхние части эпидермиса для клеток дикого типа и мутанта *phyB-5* арабидопсиса (Voccalandro et al. 2003)



В мутанте дефицитном по ФхВ было меньшее количество устьиц. В суперпродуценте – большее их количество.

Вывод: имеется фитохромная регуляция плотности устьиц и их проводимости.

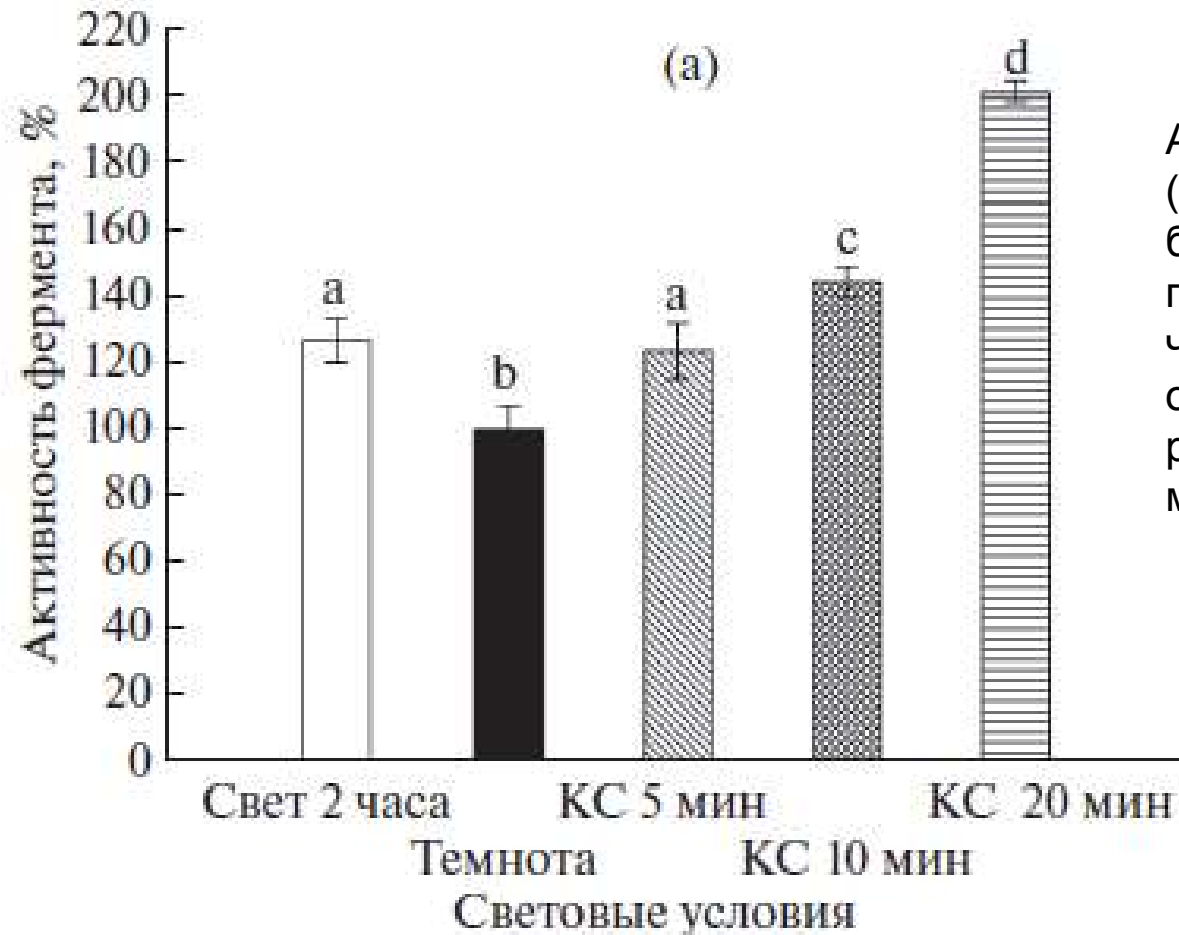
Влияние комбинированного облучения КС, ДКС и УФ-А на пероксидазную активность в листьях шпината



Вывод: Увеличение активной формы ФхВ ведет к увеличению пероксидазной активности как без УФ, так и на фоне УФ и, вероятно, защищает ФА от УФ. Эффект КС обращается ДКС.

Влияние предварительного освещения красным светом на активность пероксидазы в листьях проростков, облученных УФ-А (УФ) и необлученных светом (контроль (К) = 100%). Часть проростков предварительно освещалась красным светом (10 мин), затем УФ (RL-UV) или только 10 мин красным светом (RL). После 2 ч воздействия на проростки ультрафиолетового излучения (UV) или RL-UV (RL-FRL-UV) их держали в темноте в течение 0,5 ч. После воздействия красного света только, время темного воздействия составляло 2,5 ч до определения активности, которое рассчитывали в относительных единицах при равном содержании белка в контроле и эксперименте. Значения представляют собой средние значения четырех биологических повторностей \pm SE.

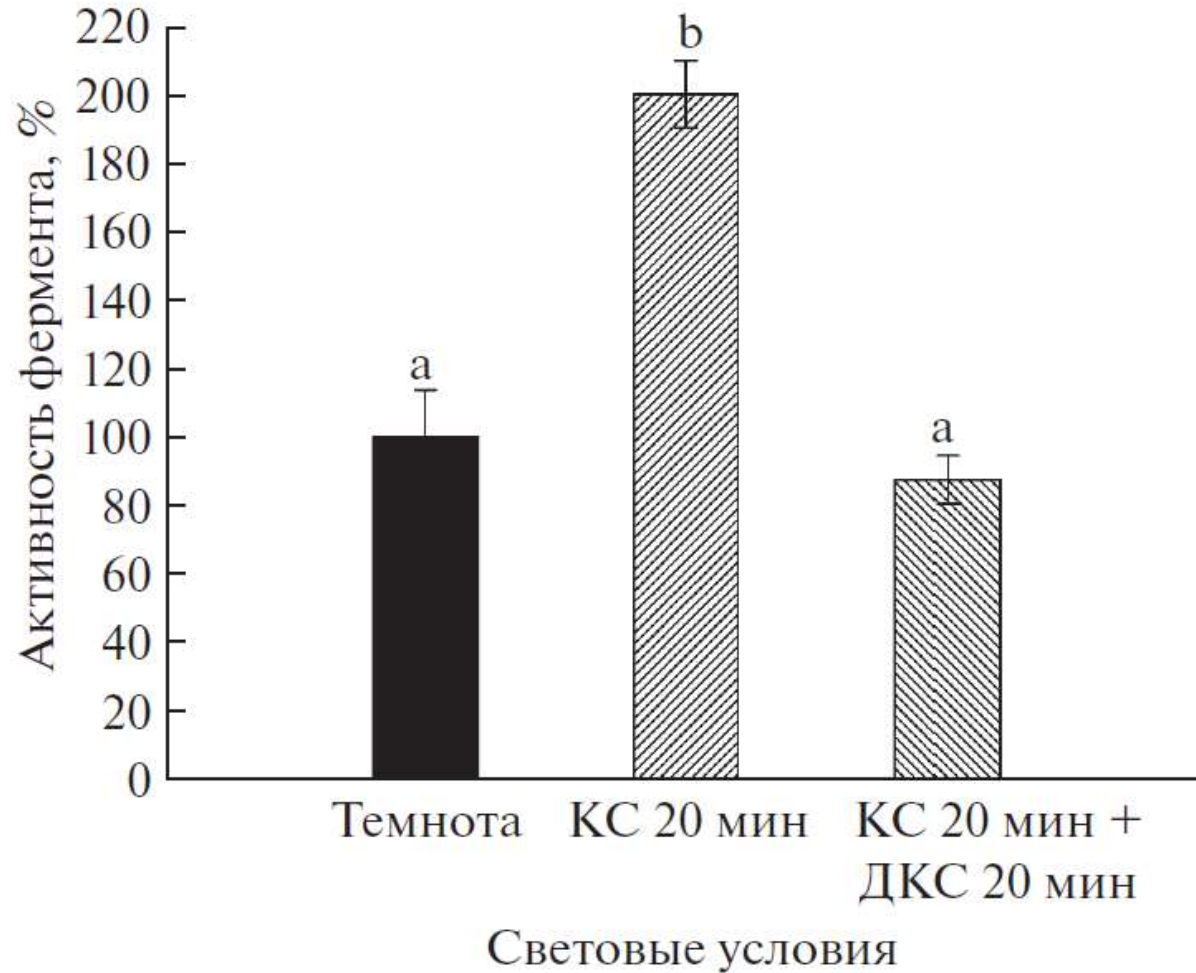
Влияние облучения различных доз красного света (660 нм) на активность ФГА-дегидрогеназного комплекса восстановительной фазы цикла Кальвина



Активность ФГА-дегидрогеназного комплекса (% от темного варианта) в суммарном белковом экстракте вторых листьев пшеницы после 8-часовой адаптации в темноте, 2-часового освещения белым светом и облучения различными дозами красного света растений, адаптированных в темноте (КС 5 мин, КС 10 мин, КС 20 мин).

Вывод: КС быстро активирует комплекс. И это фитохром В зависимый эффект.

Влияние облучений красным (КС) и дальним красным (ДКС) светом на активность ФГА-дегидрогеназного комплекса



Активность ФГА-дегидрогеназного комплекса (мкмоль окисленного НАДФ*Н в минуту на 1 г свежего веса листа) в суммарном белковом экстракте 10-дн. листьев пшеницы после 8-часовой адаптации в темноте и после облучения красным светом (КС) и ДКС растений. % от темного варианта.

Механизмы действия Фитохромной системы на активность ферментов

Влияние на биосинтезы различных метаболитов

Давно известно, что фитохромы могут регулировать транскрипцию. Однако, многие ответы как в низших, так и в и высших растениях слишком быстры, чтобы объяснить их регуляцией биосинтеза белков.

Мембранные эффекты

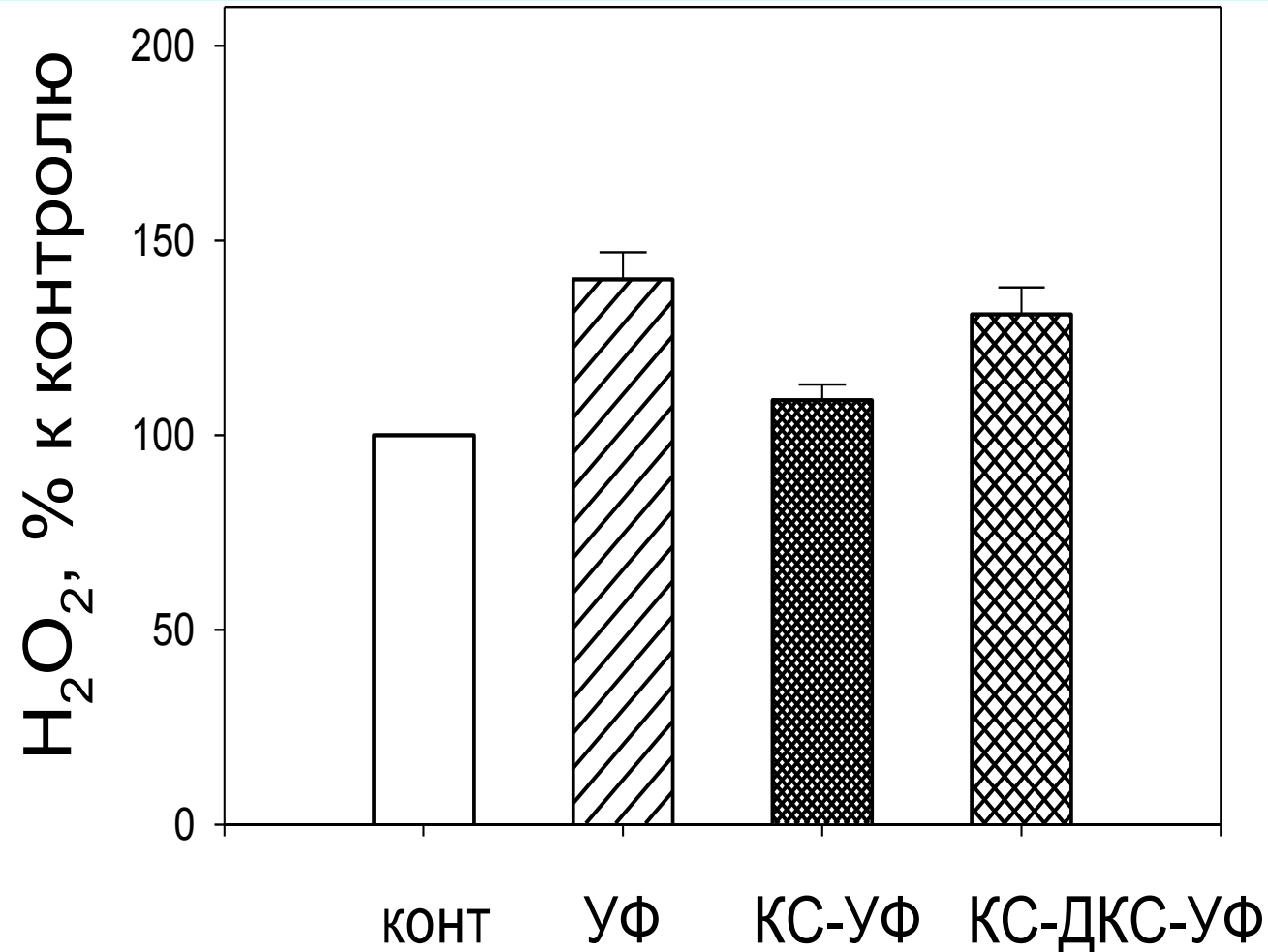
Набухание протопласта, светозависимое вращение хлоропласта в клетке *Mougeotia*, что приводит к ориентации хлоропласта перпендикулярно падающему лучу красного света, изменение мембранного потенциала, подвижность цитоплазмы в клетках водного аквариумного растения *Vallisneria* относятся к таким быстрым процессам. Трансмембранный потенциал в клетках *Salmanea pulvini* реагирует на образование Фх_{дк} в пределах 2 мин.

Механизм. Индукция ПОЛ, увеличение проницаемости мембран, в частности к Ca^{2+} .

Прямое действие

Возможна прямая активация СОД и др. ферментов, поглощающих КС (630-640 нм есть полоса поглощения у СОД)

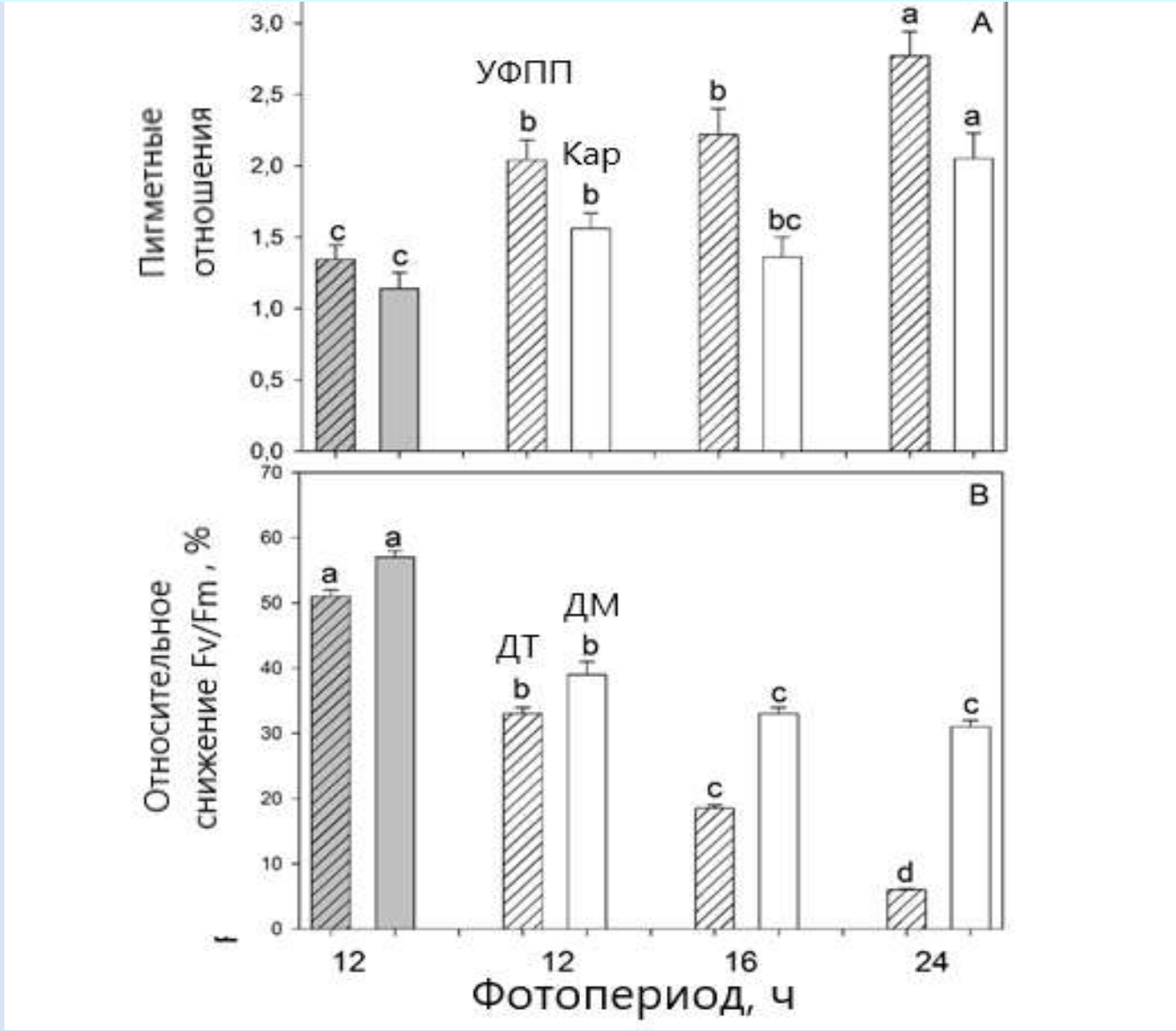
Влияние УФ-А, предоблучения КС и ДКС (10 мин) на содержание H_2O_2 в листьях 28-дн. арабидопсиса сразу после облучений



Интенсивность УФ-А 8 Вт м⁻². Время УФ-облучения 2 ч. n=3.

Вывод: можно говорить о влиянии ФхВ на про-/антиоксидантный баланс в листьях.

Связь между содержанием ультрафиолет-поглощающих пигментов и снижением активности ФС2 в листьях 25-дн. растений арабидопсиса при действии УФ-В (1 Вт м⁻², 1 ч)



При 12-ч фотопериоде УФПП в 2 раза больше у ДТ, а при 24 ч в 3 раза, поэтому разница чувствительности ФС2 к УФ-В у ДТ и ДМ резко растет при увеличении фотопериода.

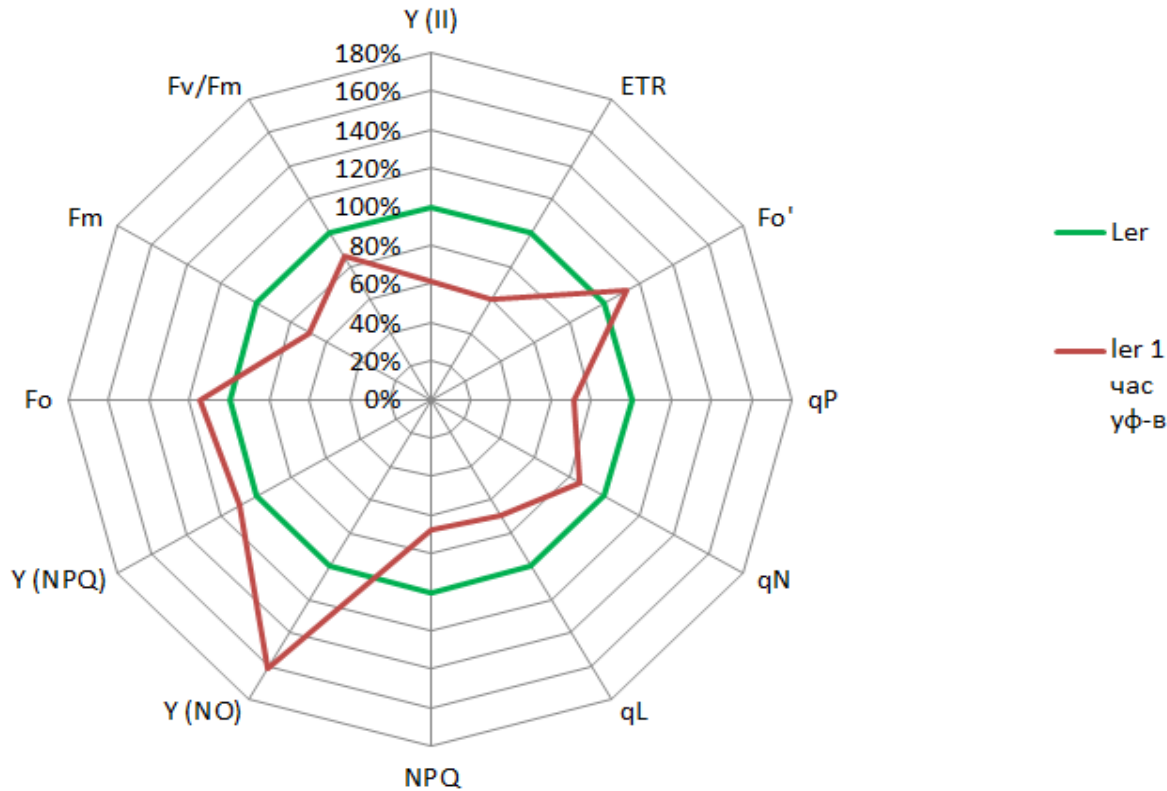
$$\text{Снижение} = (Fv / Fm_0 - Fv / Fm(UV)) / (Fv / Fm_0)$$

$$\text{Пигментное отношение} = \text{ДТ} / \text{ДМ}$$

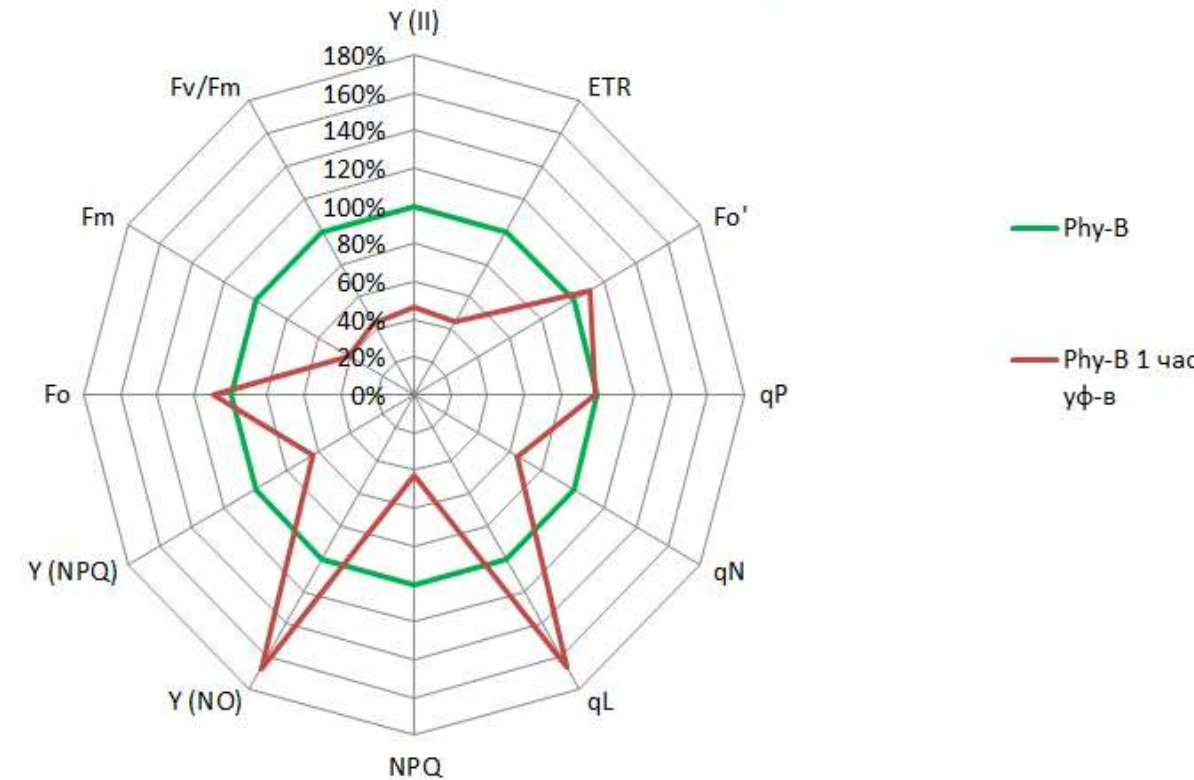
Вывод: снижение активности ФС2 негативно коррелирует с содержанием УФПП в листьях.

Паутинные диаграммы, отображающие флуоресцентные параметры при облучении арабидопсиса УФ-В (дикий тип и мутанты) ($1\text{ч}, 1\text{ Вт м}^{-2}$)

Арабидопсис LER (красный, 12ч, 25 дн) УФ-В



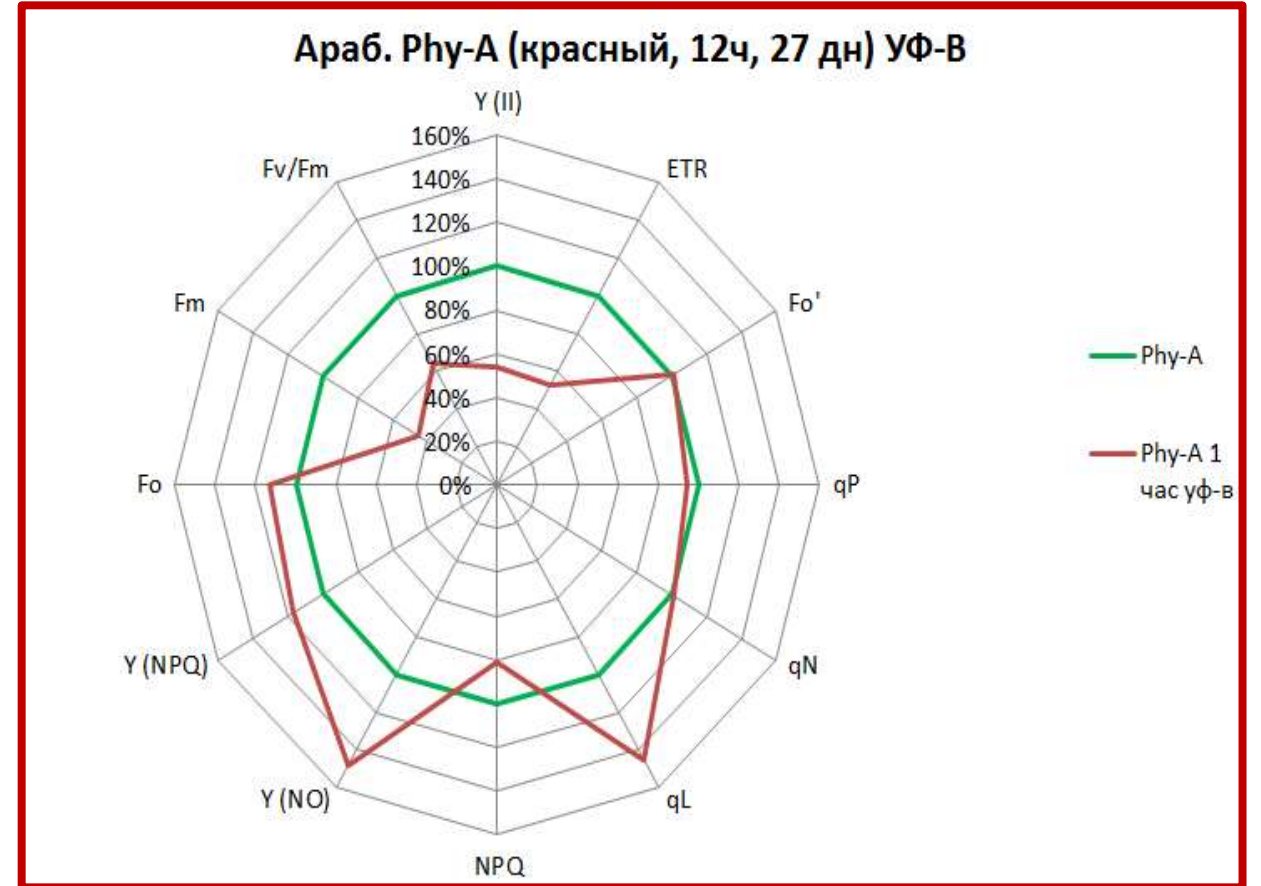
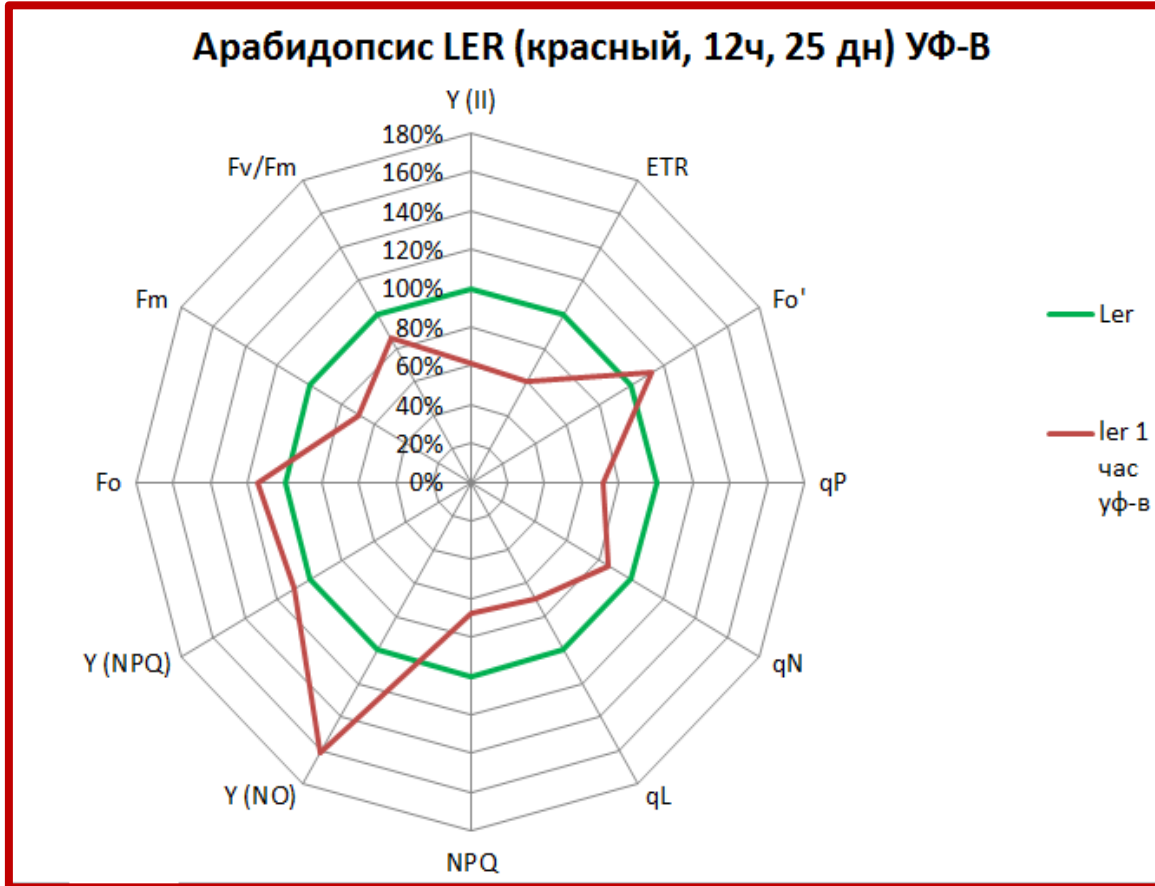
Араб. Phy-B (красный, 12ч, 27 дн) УФ-В



Вывод: Величины NPQ, qN и Y(NPQ) связанные с утилизацией поглощенной энергии в тепло, контролируются ФхВ

The Y(NPQ) represents photo-protection mechanisms of thylakoid lumen ΔpH and the xanthophyll cycle-dependent regulated non-photochemical quenching . The Y(NO) represents photo-inhibition and photo-damage

Паутинные диаграммы, отображающие флуоресцентные параметры при облучении арабидопсиса УФ-В (дикий тип и мутанты) (1 Вт м⁻² 1 ч)



Вывод: Величины NPQ, qN и Y(NPQ) контролируются ФХА в меньшей степени, чем ФХВ.

Заключение

Защитное действие фитохромной системы в основном проявляется через накопление пигментов, поглощающих свет в УФ и видимой области, повышение активности антиоксидантных ферментов и содержания низкомолекулярных антиоксидантов, а также через увеличение скорости диссипации поглощенной световой энергии в тепло.



Благодарю
за внимание!