

На правах рукописи

УДК 581.143.01/07:577.175.1

ГОЛОВАЦКАЯ ИРИНА ФЕОКТИСТОВНА

**РЕГУЛЯТОРНАЯ РОЛЬ ЗЕЛЕННОГО СВЕТА  
В МОРФОГЕНЕЗЕ И ГОРМОНАЛЬНОМ СТАТУСЕ  
РАСТЕНИЙ**

03.00.12 Физиология и биохимия растений

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Красноярск, 2009

Работа выполнена кафедре физиологии растений и биотехнологии Томского государственного университета.

**Научный консультант:** доктор биологических наук, профессор  
**Карначук Раиса Александровна**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Меняйло Лидия Николаевна**

доктор биологических наук, профессор  
**Полонский Вадим Игоревич**

доктор биологических наук, профессор  
**Попов Василий Николаевич**

**Ведущая организация:** Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева

Защита состоится " 16 " апреля \_\_\_\_\_ 2009 года в 10 часов на заседании диссертационного совета ДМ 212.099.15 при Сибирском федеральном университете по адресу: пр. Свободный, 79, 660041 Красноярск, Россия.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Сибирского федерального университета.

Автореферат разослан " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2009 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета, д.б.н.

Н.А. Гаевский

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ ВВЕДЕНИЕ

*Актуальность работы.* Свет является источником энергии для фотосинтеза и сигналом, регулирующим жизнедеятельность растений. Выполняя регуляторную роль, свет переключает основные механизмы эндогенной регуляции. Последные обеспечивают адекватную реакцию растений, ведущих неподвижный образ жизни, на условия освещения, реализуя соответствующие программы развития (фотоморфогенез и др.). В систему фоторегуляции входят рецепторы и трансдукторы светового сигнала (Mohr, 1966, 1969; Воскресенская, 1975; Карначук, 1989). Действие света начинается с поглощения его специфическими сенсорными пигментами. Фитохромы (phyA–E) поглощают красный (КС) и дальний красный свет (ДКС); криптохромы (cry1–5) и фототропины (phot1–2) – УФ-А и синий свет (СС) и суперхром (неохром) – СС и КС (Borthwick, Hendricks et al., 1952; Волотовский, 1987, 1992; Ahmad, Cashmore, 1993; Lin et al., 1995; Briggs, Olney, 2001; Liscum, Hodgson, Campbell, 2003). В настоящее время формируется представление о механизмах трансляции светового сигнала в клетке. Считают, что после поглощения 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 (Neuhaus et al., 1993; Дубовская и др., 2001; Malec et al., 2002; Kim, Kim, von Arnim, 2002; Liscum et al., 2003; Кабачевская и др., 2004; Seo et al., 2004).

Наиболее изученной является фитохромная система регуляции, включаемая КС (Mohr, 1966, 1969, 1995; Jaffe, 1968; Parks et al., 1996; Карначук, 1972, 1978; Зайцева и др., 1982, 1988; Волотовский, 1987, 1999; Синещев и др., 1989). Изучается активация фоторегуляторных систем СС (Ahmad, Cashmore, 1993; Kaufman, 1993; Jenkins et al., 1995). Биологическое значение зеленого света (ЗС) связано с преобладающей зеленой компонентой в спектре солнечного излучения и в световом потоке плотных наземных и водных фитоценозов (Шульгин, 1973; Карначук, 1987). До сих пор сохраняется представление об отсутствии фотохимической и физиологической активности ЗС, и поэтому ЗС используют в качестве "темноты" при постановке физиологических экспериментов (Hilton, 1984; Pèdrón et al., 2004). Однако, исследования показывают существенную активность ЗС в регуляции многих процессов (Мошков, 1951; Клешнин, 1954; Карначук, 1972, 1978, 1987; Тохвер, 1975; Константинова и др., 1975; Тихомиров и др., 1983, 1991; Головацкая и др., 1988; Негрецкий и др., 1990; Шахов, 1993; Карначук, Головацкая, 1998; Головацкая, 2005). В настоящее время остаются не изученными роль ЗС в морфогенезе растений, механизм действия ЗС на рост и развитие растений, природа фоторецептора ЗС.

Известно, что КС и СС изменяет содержание отдельных групп фитогормонов (Dorfler, Goring, 1978; Hilton, Smith, 1980; Запрометов, 1987; Холодарь, Чекуров, 1989; Ракитина, Кефели, 1989; Головацкая и др., 1988; Карначук, Негрец-

кий, Головацкая, 1990), а некоторые фитогормоны в темноте могут вызывать реакции, подобно световым (Brien et al., 1985; Chory et al., 1994; Su, Howwell, 1995). По всей видимости, фитогормоны выступают в роли промежуточных трансдукторов светового сигнала (Chory et al., 1991; Карначук, Головацкая и др., 2002; Tanaka et al., 2003). Практически не изучен гормональный статус растений при адаптации к ЗС. Нет данных об участии *жасмоновой кислоты* (ЖК) в светозависимых реакциях растений.

Среди растительных гормонов уникальным классом являются *брассиностероиды* (БР), нарушение синтеза которых ведет к изменениям светозависимого развития растений (Li et al., 1996; Altmann, 1998). В настоящее время не выяснена роль БР в трансдукции сигнала ЗС. Среди растительных веществ стероидной природы выделяют *фитоэкдистероиды*, представляющие интерес для медицины и сельскохозяйственной практики. Не изучена роль этих веществ в растении и не показана зависимость их содержания от ЗС.

Изучение этих проблем позволит расширить понимание фоторегуляторных и фотобиологических процессов, а также развитие световой технологии культуры растений.

*Цель и задачи исследования.* Целью работы явилось исследование регуляторной роли зеленого света в морфогенезе растений и механизмов ее реализации, а также участия в этих процессах брассиностероидов, экдистерона и жасмоновой кислоты.

В соответствии с целью были сформулированы следующие *задачи*:

1. Изучить особенности морфогенеза и статуса эндогенных гормонов растений при деэтиоляции на зеленом свете, в сравнении с синим и красным.
2. Оценить взаимосвязь между морфофизиологическими процессами и статусом эндогенных гормонов (индолилуксусная кислота, зеатин и рибозид зеатина, гиббереллины ГК<sub>1+3</sub>, ГК<sub>4+7</sub>, ГК<sub>9</sub> и абсцизовая кислота) растений при длительной адаптации к зеленому свету, в сравнении с синим и красным.
3. Изучить регуляторную роль зеленого света в формировании фотосинтетического аппарата при длительной адаптации к зеленому свету, в сравнении с синим и красным.
4. Выявить специфику действия брассиностероидов (24-эпибрассинолида, 28-гомобрассинолида и брассинолида), экдистерона и жасмоновой кислоты на морфогенез и гормональный баланс арабидопсиса на зеленом свете.
5. Оценить действие отдельных длин волн зеленой области ФАР на морфогенез и гормональный баланс растений с целью поиска фоторецептора зеленого света.

*Основные положения диссертации, выносимые на защиту:*

1. Зеленый свет, как монохроматический (515, 524.5, 532, 543 и 553 нм), так и широкополосный (500–600 нм), специфически регулирует морфогенез растений. Характер адаптационных морфофункциональных реакций растений на действие ЗС зависит от его продолжительности, интенсивности и спектра, а также вида растений.
2. В основе регуляторного действия ЗС на рост листа, проростка и взрослого растения лежит изменение гормонального комплекса, проявляющееся в

одновременном изменении активности и содержания основных групп фитогормонов, и зависимое от таксономической принадлежности растений.

3. Взаимодействие путей трансдукции сигналов ЗС и brassinosterоидов, ЗС и жасмоновой кислоты проявляется через регуляцию уровня других эндогенных фитогормонов, контролирующих морфогенез растений.

4. Фитохромы, криптохромы и другие регуляторные пигменты, поглощающие свет с длиной волны 515, 524.5, 532, 543 и 553 нм, входят в систему фоторегуляции морфогенеза растений на ЗС, сопряженную с гормональной системой.

Научная новизна работы. Впервые исследовано действие ЗС на морфогенез на уровне листа, проростка и взрослого растения нескольких видов двудольных и однодольных. Показано, что замедление развития растений на ЗС связано с изменением интенсивности ростовых процессов и фотосинтеза. Реакция на ЗС видоспецифична и зависит от его интенсивности. На ЗС (от 48 до 327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) формируются растения с более низкой биопродуктивностью, чем на КС и СС, что проявляется в формировании тонкой листовой пластинки, уменьшении числа клеток мезофилла и размеров клеток столбчатой паренхимы, увеличении объема межклетников. Показана важность ЗС при включении специфической программы фотоморфогенеза растений.

Установлено, что трансдукция сигнала ЗС сопряжена с изменением баланса эндогенных фитогормонов, который является одним из основных факторов регуляции морфогенеза растений. Впервые показано, что ЗС увеличивает в листе активность и содержание АБК и уровень ГК<sub>9</sub>, снижая уровень цитокининов и ИУК. Нарушения генов *DET2* и *GA4*, кодирующих ферменты биосинтеза brassinosterоидов и гиббереллинов, обуславливают усиление ингибирующего действия зеленого света на морфогенез растений.

Впервые обнаружено участие brassinosterоидов (24-эпибрассинолида, 28-гомобрассинолида и брассинолида), жасмоновой кислоты и экдистерона в регуляции морфогенеза на ЗС.

Показано, что фитохромы, криптохромы и другие регуляторные пигменты, поглощающие свет с длиной волны 515, 524.5, 532, 543 и 553 нм, входят в систему фоторегуляции морфогенеза растений на ЗС, сопряженную с гормональной системой. Активация регуляторных пигментов на ЗС тканеспецифична.

Научно-практическая значимость работы. Результаты исследований вносят существенный вклад в развитие теории фотобиологии и фоторегуляции жизнедеятельности растений, расширяя знания о роли ЗС в морфогенезе, механизмах действия ЗС на рост и развитие растений и углубляя представления о фоторецепторах ЗС.

Полученные данные открывают новые возможности для разработки практических способов контролирования интенсивности и спектрального состава света в условиях закрытого грунта для сельскохозяйственных растений при создании источников света и светокорректирующих пленок с заданными свойствами. Предложена методика быстрого биологического тестирования условий под светокорректирующими пленками на световых мутантах растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Полученные результаты использованы при выполнении на-

учной программы "Полимерные композиционные материалы – избирательные фильтры преобразователи электромагнитного излучения и их применение в биологических исследованиях, сельском хозяйстве и медицине" в институте химии и нефти СО РАН. Полученные данные обосновывают способы применения brassinosteroidов с целью повышения урожайности и технологичности растениеводства. Результаты исследования используются в учебном процессе Томского государственного университета и Томского государственного педагогического университета при чтении курсов "Физиология растений", "Основы сельского хозяйства", "Рост и дифференцировка растений", а также включены в учебно-методические пособия "Ростовые вещества" и "Свет и растение".

*Личный вклад соискателя* состоит в проведении экспериментальной работы, в осуществлении поиска путей достижения цели и в интерпретации результатов.

*Связь работы с крупными научными программами, темами.* Работа является частью плановых исследований кафедры физиологии растений и биотехнологии Томского государственного университета по теме "Исследование фоторегуляторных систем роста, фотосинтеза и продуктивности растений при адаптации к свету", научной программы "Университеты России" УР 07.01.04, ФЦНТП Госконтракта № 02.512.11.2035 от 27.02.2007 г., 2007-2008 ФАО – РНП.2.1.1.7338, научной программы И\_РФФИ 08-04-90042-Бел\_а, И\_ФЦНТП Госконтракта № 02.512.11.2220 от 06.06.2008г.

*Апробация работы.* Основные результаты доложены на Всесоюзном совещании "Взаимосвязь фотосинтеза и дыхания в ассимилирующих клетках и органах" (Томск, 1986); VIII делегатском съезде Всесоюзного ботанического общества "Актуальные вопросы ботаники в СССР" (Алма-Ата, 1988); 2 Всесоюзной конференции и 4, 5 международной конференции "Регуляторы роста и развития растений" (Киев, 1989; Москва, 1997, 1999); Всесоюзном семинаре "Иммуноферментный анализ в системе методов определения регуляторов роста растений: приложение к физиологии растений и экологии" (Уфа, 1989); Всесоюзном совещании "Спектральный состав света и продукционный процесс в управляемых условиях" (Красноярск, 1990); II–VI съездах Всесоюзного общества физиологов растений (Москва, 1992; Санкт-Петербург, 1993; Москва, 1999; Пенза, 2003; Сыктывкар, 2007); International Symposium Physiology of Abscisic Acid (Pushchino, 1993); I–IV и VII международных симпозиумах "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования" (Пушино-на-Оке, 1995, 2001, 2003, 2005; 2007); International Symposium Physical-Chemical Basis of Plant Physiology (Pushchino, 1996); "Управление продукционным процессом растений в регулируемых условиях" (Санкт-Петербург, 1996); "Теоретические и практические аспекты изучения лекарственных растений" (Томск, 1996); III симпозиуме "Физико-химические основы физиологии растений и биотехнология" (Москва, 1997); I Международном симпозиуме "Эволюция жизни на Земле" (Томск, 1997); II Всесоюзном съезде фотобиологов (Пушино-на-Оке, 1998); Всесоюзной конференции "Физиология и биотехнология растений" (Томск, 1998); Интернет-конференции "Биометрика: 2000" (<http://www.biometrica.tomsk.ru/biom.2000>); III всесоюзной конференции "Иммуноанализ регуля-

торов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии" (Уфа, 2000); 12–14, 16<sup>th</sup> Congress of Federation of European Societies of Plant Physiology (Budapest, 2000; Hersonissos, Heraklion, 2002; Cracow, 2004; Tampere, 2008); Международной конференции "Актуальные вопросы экологической физиологии растений в XXI веке" (Сыктывкар, 2001); 17<sup>th</sup> International Conference on Plant Growth Substances (Brno, 2001); 5<sup>th</sup> Korea-Russia International Symposium on Science and Technology (Tomsk, 2001); 6 международной конференции "Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях" (Москва, 2001); Международной научной конференции "Проблемы физиологии растений Севера" (Петрозаводск, 2004); Международной научно-практической конференции "Проблемы рационального использования растительных ресурсов" (Владикавказ, 2004); Международной конференции "Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия" (Вологда, 2005). Международной конференции "Современная физиология растений: от молекул до экосистем" (Сыктывкар, 2007); Международной научной конференции "Физико-химические основы структурно-функциональной организации растений" (Екатеринбург, 2008); 2<sup>nd</sup> International Symposium "Plant Growth Substances: Intracellular Hormonal Signaling and Applying in Agriculture" (Kyiv, 2007); IV съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов с международным участием (Новосибирск, 2008).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 98 работ, в том числе 1 монография (в соавторстве) и 58 статей (20 статей в рецензируемых журналах) и 2 учебно-методические пособия "Ростовые вещества" и "Свет и растение".

Структура и объем диссертации. Диссертация включает введение, обзор литературы, главу, посвященную объектам и методам исследования, и 4-е главы с изложением и анализом результатов исследования, заключения, выводов и списка цитированной литературы (802 наименования, в том числе 532 – на иностранных языках). Работа изложена на 303 страницах машинописного текста и иллюстрирована 57 таблицами и 83 рисунками.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования. Для исследований были выбраны растения бадана толстолистного – *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch., левзеи сафлоровидной – *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjlin., лихниса хальцедонского – *Lychnis chalcidonica* L., серпухи венценосной – *Serratula coronata* L., содержащие фитостероиды и имеющие значение для медицины, сельскохозяйственные растения овса – *Avena sativa* L. сорта Таежник и фасоли обыкновенной – *Phaseolus vulgaris* L. сорта Белозерная, и сорные растения овсюга (или овса обыкновенного – *Avena fatua* L., возможного предшественника овса посевного; Хржановский, 1976; Сергеевская, 1998) и арабидопсиса – *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

В качестве модельного растения использовали *A. thaliana* благодаря множеству мутаций, затрагивающих разные признаки. В работе изучали растения исходных линий 2-х экотипов Columbia и Landsberg *erecta* (Col и Ler) и их 6-ти мутантов (*det2* с нарушенным биосинтезом БР, *jar1-1* с нарушенной модификацией ЖК, *ga4-1* с нарушенным синтезом ГК, *hy4* с нарушенным синтезом фоторе-

цептора *CC cry1*, *hy1* и *hy3* с нарушенным биосинтезом фоторецепторов КС (*phyA-E* и *phyB*), полученных и описанных (Koornneef, Rolff, Spruit, 1980; Chory et al., 1989; Staswick, Su, Howel, 1992; Ahmad, 1993; Davis, Kurepa, Vierstra, 1999).

**Методы исследований. Условия выращивания растений.** Вегетационные опыты трехкратно проводили в почвенной культуре растений (бадан, левзея, лихнис, серпуха, овес, овсюг) с использованием установок искусственного климата ИФРа РАН (г. Москва). Источниками света служили люминесцентные лампы ЛС-65 (синие, макс. 440–460 нм), ЛЗ-65 (зеленые, макс. 510–550 нм), ЛК-65 (красные, макс. 640–660 нм) и ЛД-65 (белые). Интенсивность света была выравнена по падающим квантам с помощью спектрометра Ava-Spec 20-48-2 (фирма «Avantes», Голландия) и составила на уровне молодых метамеров 327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с. Арабидопсис выращивали на свету (интенсивность – 48 и 96 мкМ квант/м<sup>2</sup>с; люминесцентные лампы ЛЗ-40 и лампы фирмы "Philips" TL-D 18W/18 (синие) и TL-D 18W/17 (зеленые)).

Кратковременные опыты. Растения, имеющие крупные семена с большим запасом питательных веществ (овес, фасоль), выращивали на воде в рулонах фильтровальной бумаги при температуре 22–24<sup>0</sup>С в течение соответственно 8 и 10 суток. Растения с мелкими семенами (арабидопсис) выращивали в течение 7 суток в стерильной культуре на жидкой 100 или 50% питательной среде Мура-сиге и Скуга (Бутенко, 1999). Для яровизации и равномерного прорастания семян выдерживали чашки Петри при 6<sup>0</sup>С в течение 3 суток с последующим 3 или 16 ч экспонированием на свету (люминесцентные лампы ЛБ-40, 33 Вт/м<sup>2</sup>). Деэтиоляцию проростков (1, 5, 15, 30 или 60 мин) на селективном свету проводили однократно (овес, фасоль) или повторяли ежедневно (арабидопсис). Обработка растений *арабидопсиса* низкоэнергетическим потоком электромагнитной радиации проведена на установке, состоящей из диапроектора с галогеновой лампой ГKM-250, системой линз и интерференционных светофильтров (524.5 и 543 нм, ширина пропускания 10 нм, 3, 3.7 и 4.2 мкМ квант/м<sup>2</sup>с; 439 нм, ширина пропускания 9 нм, 3.6 и 5.2 мкМ квант/м<sup>2</sup>с).

Проростки *овса* и *фасоли* освещали 1, 5 и 30 мин СС, ЗС и КС на установке, состоящей из кинопроектора с проекционной лампой накаливания мощностью 400 Вт и набором интерференционных светофильтров ( $\lambda_{\text{макс.}} = 436, 553, 670$  и 748 нм, полуширина пропускания 7–14 нм). При необходимости ДКС снимали 0.2%-ным раствором  $\text{CuSO}_4$ . Интенсивность падающего СС, ЗС, КС и ДКС была выравнена по поглощенным квантам и составила соответственно 2.1, 3.3, 2.8 и 1.29 Вт/м<sup>2</sup>. После освещения растения овса выдерживали 30 мин в темноте (для определения содержания гормонов) и 24, 48 ч (для определения размеров листа).

Облучение растений *арабидопсиса* более высокоэнергетическим уровнем электромагнитного излучения проводили на установке лазерного фотолиза, состоящего из лазера на красителе (кумарин 7, кумарин 153 и др.) с неселективным резонатором, накачиваемого эксиплексным ХеСl-лазером. Установка позволила получать направленное импульсное узкополосное излучение зеленой ( $\lambda_{\text{ген}} = 515, 532, 542$  нм, энергия имп. 2.0, 2.0 и 5.5 мДж соответственно, длительность имп. 10 нс, частота 1 Гц), красной и дальней красной ( $\lambda_{\text{ген}} = 672, 730$



нм, энергия имп. 3.0 и 2.4 мДж соответственно, длительность имп. 10 нс, частота 1 Гц) областей спектра. Это излучение при помощи оптической системы, состоящей из короткофокусной линзы и поворотного зеркала равномерно распределялось на поверхности чашки Петри с облучаемыми растениями. Растения освещали по 30 и 300 имп. Суммарная доза излучения (30 импульсов), падающего на растения, с учетом отражения крышки чашки Петри (13%) была равна 0.05, 0,05 и 0.14 Дж соответственно для  $\lambda_{\text{макс.}} = 515, 532 \text{ и } 542 \text{ нм}$ . Удельная доза облучения составляла 2.09, 2.09 и 5.74 мДж/см<sup>2</sup>. Этиолированные проростки арабидопсиса в возрасте 3.5 дней однократно облучали расфокусированным импульсным лазерным излучением (200, 30 или 300 импульсов) и через 3.5 суток выращивания в темноте фиксировали.

**Методы морфофизиологических исследований.** Структурную организацию мезофилла листа изучали по методикам (Мокроносов, Борзенкова, 1978), рассчитывая число клеток палисадной и губчатой ткани на единицу площади и на лист. Изучали *молодые*, активно растущие листья, пластинки которых составляют 2/3 окончательного размера, и закончившие рост, *взрослые* или зрелые листья. Измерения объема клеток палисадной паренхимы (Цельникер, 1978) проводили на поперечных срезах, сделанных замораживающим микротомом и помещенных в глицерин, при помощи окуляр-микрометра (увеличение 40x12). Повторность измерений для какого варианта была 50–100-кратной. Объем межклеточного пространства определяли методом инфильтрации воды в высечки одновозрастных листьев, взятых с разных растений определённого светового варианта. Число хлоропластов в клетке палисадной или губчатой паренхимы подсчитывали в мацерированной ткани листа. Повторность измерений 50–70 кратная для клеток столбчатой и губчатой паренхимы. Размеры хлоропластов определяли на поперечных срезах листа ( $\approx 30\text{--}50 \text{ мкм}$ ), полученных с помощью замораживающего микротомы и помещенных в глицерин, при помощи светового микроскопа с иммерсионным объективом (увеличение 1350x) и окуляр-микрометра. Повторность измерения хлоропластов 150–200-кратная. Рассчитывали количество хлоропластов, приходящихся на единицу листовой площади и содержание хлорофилла в одном хлоропласте.

Измерение ростовых параметров проростков арабидопсиса осуществляли под лупой БМ-51-2 (увеличение 8.75<sup>x</sup>) (длина гипокотилей и корней) и бинокулярным микроскопом PZO Warszawa (Польша) с окуляр-микрометром (увеличение  $\times 100$ ) и видеокамерой «Moticam-2300» (Испания) (размеры семядолей).

Для количественного определения эрдистерона в растительном сырье использовали методику (Якубова, 1978). Содержание аскорбиновой кислоты, сахарозы и редуцирующих сахаров определяли по методикам А.И. Ермакова с соавторами (1972). Содержание хлорофиллов a и b, и каротиноидов определяли спектрофотометрически в 85 и 100%-ных ацетоновых экстрактах растительного материала, рассчитывая по формулам (Шлык и др., 1971). Потенциальную способность электронтранспортной цепи хлоропластов осуществлять перенос электронов от воды к дихлорфенолиндофенолу (ДХФИФ), никотинамиддинуклеотидфосфату, на феррицианид калия определяли спектрофотометрическим методом в условиях отдельного функционирования каждого из этих

акцепторов (Постовалова и др., 1987). Интенсивность фотосинтеза измеряли по изменению концентрации  $\text{CO}_2$  в замкнутой системе, соединенной с инфракрасным газоанализатором "Infralyt-3" ("Junkalor", Германия). Определение проводили на листьях, не отделенных от растений, с использованием камеры-щипцов. Концентрация  $\text{CO}_2$  в воздухе составляла 0.04%, интенсивность света – 60–500 Вт/м<sup>2</sup>. Интенсивность потенциального фотосинтеза измеряли при облучении 500 Вт/м<sup>2</sup> ФАР белого света при 0.08%  $\text{CO}_2$ .

Содержание и активность эндогенных гормонов в растении определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), твердофазного иммуноферментного метода (ИФА) и биотестирования. Растения и их части фиксировали жидким азотом для определения ИУК, АБК, цитокининов (ЦК) и гиббереллинов (ГК). Выделение свободной и связанной фракции ГК проводили по методу (Ложникова, Хлопенкова, Чайлахян, 1973). Активность ГК определяли по степени удлинения гипокотилей салата *Lactuca sativa* L. сорта Берлинский, по динамике  $\alpha$ -амилолитической активности эндосперма голозерных семян ячменя *Hordeum sativum* L. сорта Гималайский (Серебряков, 1977) с учетом содержания редуцирующих сахаров (Ермаков и др., 1972). Прирост выражали в процентах к контролю на воде. При использовании указанной системы растворителей не происходило полного разделения  $\text{ГК}_1$  и  $\text{ГК}_3$ , а также  $\text{ГК}_4$  и  $\text{ГК}_7$ , поэтому обсуждается их суммарное содержание –  $\text{ГК}_{1+3}$  и  $\text{ГК}_{4+7}$  (наши наблюдения; Обут и др., 1983). Количественное определение ГК проводили с помощью твердофазного ИФА (Холодарь, Шевцов, Чекуров, 1995). Выделение свободных и связанных форм ИУК и АБК проводили по методу (Кефели и др., 1973). Для высвобождения ИУК и АБК из связанных форм применяли щелочной гидролиз. Активность ИУК и АБК определяли по степени удлинения отрезков coleoptилей пшеницы *Triticum vulgare* L. сорта Альбидум или Скала относительно контроля на 2%-ном растворе сахарозы. Выделение ЦК проводили по методу (Негрецкий, 1988; Кудоярова и др., 1990). Активность ЦК определяли по уровню  $\beta$ -цианинов в проростках *Amarantus caudatus* L. спектрофотометрически на "СФ-26" при длине волны 541 нм (Мазин, Шашкова, Андреев, 1976). Количественное определение ИУК, АБК и ЦК (зеатина и рибозида зеатина) проводили с помощью ВЭЖХ (хроматограф – "Pye Unicam 4000", Англия) на колонках, наполненных силикагелем с нанесенной обращенной фазой  $\text{C}_{18}$  (Негрецкий, 1988) и твердофазного ИФА (Кудоярова и др., 1990), используя моноклональные антитела к свободным формам ИУК, АБК и зеатину, и антивидовые антитела, меченные пероксидазой ("Фармхиминвест", Россия). Измерение плотности растворов определяли на микрофотометре "Specord M-40" при длине волны 492 нм.

Для изучения физиологической роли ЭКД использовали серию биологических тестов, разработанных ранее для определения активности эндогенных фитогормонов (ГК, ИУК, ЦК). В качестве стандартного образца использовали 20-гидроксиэксидизон (20E "Sigma", США), любезно предоставленный доц. Р.И. Лещук (Томский госуниверситет). Готовили серию молярных растворов гормона ( $10^{-13}$ – $10^{-5}$  М), на основе которых проводили биотесты.

Для изучения регуляторной роли БР и ЖК в морфогенезе растений вводили

гормоны в питательную среду МС, на которой выращивали растения арабидопсиса. В качестве стандартных образцов использовали 28-гомобрассинолид (ГБЛ), 24-эпибрассинолид (ЭБЛ) и брассинолид (БЛ), любезно предоставленные проф. В.А. Хрипачом (ин-т биоорганической химии НАН Беларуси г. Минск), и ЖК, любезно предоставленную проф. И. Махачковой (ин-т экспериментальной ботаники АН Чешской республики, г. Прага). Оценивали оптимальную концентрацию ГБЛ, ЭБЛ и БЛ для ростовых процессов, анализируя действие веществ в диапазоне концентраций от  $10^{-13}$ – $10^{-5}$  М. В последующем использовали экзогенные гормоны в концентрациях, существенно изменяющих ростовые процессы проростков, в сочетании с обработкой растений светом разного спектрального состава. Для изучения роли БЛ в онтогенезе растений арабидопсиса проводили обработку  $10^{-9}$  М раствором на стадии замачивания семян (предпосевная обработка),  $10^{-11}$  М на стадии формирования розетки (внекорневая обработка) и последовательно на стадиях замачивания семян и формирования розетки (двойная обработка).

**Статистические методы.** Обработку данных проводили средствами электронных таблиц EXCEL и программы STATISTICA. Оценку достоверности результатов проводили при 5%-уровне значимости. На гистограммах и в таблицах приведены средние арифметические и их стандартные ошибки.

### СТРУКТУРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ К ЗЕЛЕНОМУ СВЕТУ

Индикаторами адаптационных изменений всего организма растений к свету служили морфофизиологические характеристики листа, проростков и целого растения разных таксономических групп.

В зависимости от условий освещения (свет или темнота) покрытосеменные растения реализуют специфические программы развития. В темноте осуществляется программа *скотоморфогенеза*, обуславливающая активацию удлинения клеток побега и, тем самым, движение к свету, достаточного для фотоавтотрофного роста. На свету реализуется программа *фотоморфогенеза*, определяющая морфологию растений, оптимально предназначенную для осуществления фотосинтеза. С позиции морфогенеза в темноте и на свету отмечены существенные различия однодольных и двудольных растений по строению зародыша и относительному росту его частей. Особенностью *скотоморфогенеза* однодольных является формирование мезокотилия, растяжение колеоптиля и свернутого в трубку листа. Для двудольных в темноте характерно растяжение гипокотилия и эпикотилия (длительный рост в темноте), образование осевой петли для защиты листа и отсутствие роста листа. *Фотоморфогенез* однозначно сопровождается активированием роста листа: у злаков – разворачиванием листа, двудольных – ростом листа в длину и ширину (Головацкая и др., 2000, 2007, 2008).

Наши предварительные исследования скотоморфогенеза растений впервые выявили, что *темновой* рост в длину *колеоптиля* (а) и *листа* (б) овса сорта Таежник описывается уравнениями одного вида:  $y = A/(1 + 10^{a+bt})$ , где константы соответственно равны 2.5861 и -0.5817 (а); 1.9409 и -0.3183 (б) (Головацкая и др., 2000). Данные свидетельствуют о согласованности роста этих элементов побега в темноте, обуславливающей защитную функцию колеоптиля.

Согласно нашим данным (Карначук, Головацкая и др., 2002; Головацкая, 2004а, 2004б, 2005, 2008а, 2008б; Головацкая и др., 2003, 2007), программа скотоморфогенеза проростков арабидопсиса находится в зависимости от генотипа. На это указывают изменения морфологии этиолированных проростков с модифицированной активностью генов, контролирующих синтез фоторецепторов (*cry1*, *phyB*, *phy A–E*) или фитогормонов (ГК и БР) (рис. 1). Так, в отсутствие *cry1* (мутант *hy4*) тормозится темновой рост гипокотилия (Карначук, Тищенко, Головацкая, 2001; Карначук, Головацкая и др., 2002; Головацкая, 2003б, 2003г, 2005), а при нарушении *phyB* (мутант *hy3*) – усиливается его растяжение. Недостаток *phyB* в большей степени, чем *cry1*, способствует торможению роста семядолей. Наши данные об усилении этиоляции проростков арабидопсиса в отсутствие *phyB* свидетельствуют об участии этого фоторецептора в регуляции темнового роста, что согласуется с данными о росте колеоптилей риса (Sineshchekov et al., 2005). В соответствии с современными представлениями, программа скотоморфогенеза требует для своей реализации специальных продуктов генов, подавляющих пассивный путь фотоморфогенетического развития (Kim, Kim, von Arnim, 2002). По нашим данным недостаток БР (*det2*) в большей степени, чем ГК (*ga4-1*), обуславливает деэтиоляцию проростков арабидопсиса в темноте. Следовательно, экспрессия гена *DET2* в большей степени, чем *GA4*, вызывает репрессию фотоморфогенеза (Головацкая, 2008б).

На белом свету (БС) рост в длину колеоптиля (а) и листа (б) овса описывается уравнениями разного вида:  $y = A/(1 + 10^{a+dt^2})$  (а),  $y = A/(1 + 10^{a+bT+dt^2})$  (б), где константы соответственно равны 2.0858 и -0.1757 (а); 2.5773, -0.4960, 0.0106 (б) (Головацкая и др., 2000). Полученные данные показывают изменения темпов и направления роста элементов побега на свету, обусловленные расхождением их функций.

Нами установлено, что БС ингибирует растяжение гипокотилей и стимулирует рост семядолей проростков исходной линии *Ler* и *Col* арабидопсиса. В то же время у мутантов по фоторецепторам (*hy1*, *hy3*, *hy4*) или гормонам (*ga4-1*, *det2*) ростовые ответы на действие БС менее выражены, что свидетельствует о важности для трансдукции светового сигнала фоторецепторов (*phyA–E*, *phyB*, *cry1*) и фитогормонов (ГК и БР).

### ***Морфогенез растений при кратковременном действии ЗС***

Нами установлена видоспецифичность ростовых реакций листа растений на кратковременное действие ЗС. Деэтиоляция на ЗС (553 нм, однократно 30 мин.) листа фасоли увеличивает (через 24 ч темноты) растяжение листа, сопровождающееся снижением УПП и количества клеток мезофилла на см<sup>2</sup>, свидетельствуя о торможении клеточного деления ЗС. Ростовые реакции листа фасоли на ЗС были менее выражены, чем на КС (670 нм) и СС (436 нм) (табл. 2). Рост листа овса на ЗС не изменялся, что свидетельствовало о более высоком пороге его чувствительности к ЗС (Карначук, Негрецкий, Головацкая, 1990).

Для роста проростков *Ler* арабидопсиса важна как длина волны падающего ЗС, так и его интенсивность. Прирост семядолей был одинаковым при ежедневной 60-минутной деэтиоляции на ЗС с макс. 524.5 (3 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) и 543

нм (3.7 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) в течение 7-ми суток, тогда как торможение роста гипокотилей происходило на ЗС с макс. 543 нм (рис. 1а). В спектре действия индуцированных ЗС низкоэнергетических реакций отмечался пик 540–550 нм.

Повышение интенсивности ЗС (543 нм) до 4.2 мкМ квант/м<sup>2</sup>с дополнительно увеличивает прирост семядолей *Ler*, существенно не меняя торможение растяжения гипокотилей. Считают, что ЗС удлиняет гипокотиль на ранних этапах его роста и этим *противодействует его торможению на свету* (Folta, 2004).

Одинаковый прирост площади семядолей у *Ler* и его мутанта *hy3* при деэтиоляции на ЗС (524.5 нм, 3 мкМ квант/м<sup>2</sup>с, 60 мин) свидетельствует об участии фоторецептора, отличного от phyВ. Эти *очень низко энергетические реакции* (ОНЭР) вероятно были опосредованы или одинаковым уровнем phyА, ответственного за чувствительность ОНЭР (Botto et al., 1996; Shinomura et al., 1996; Casal et al., 1998), или другим фоторецептором, возможно, включающим ОНЭР ЗС у дикого типа и его мутанта, например, *cry2*.

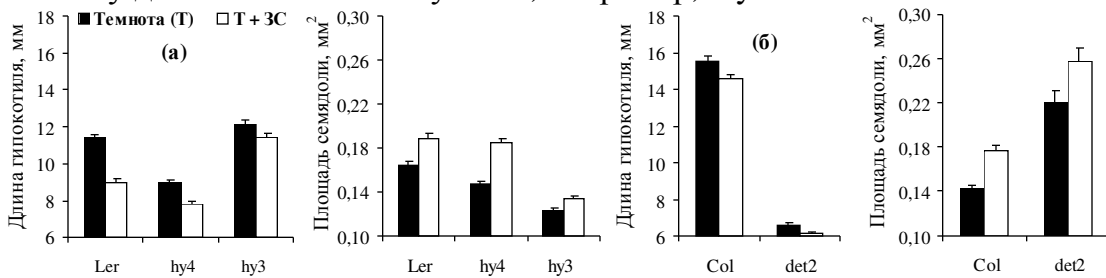


Рисунок 1 – Ростовые параметры 7-дневных проростков арабидопсиса при деэтиоляции на ЗС (543 нм, 3.7 мкМ квант/м<sup>2</sup>с, 60 мин, 100 (а) и 50% МС (б))

В соответствии с нашими данными, phyВ не участвует в реакции семядолей на действие 524.5 нм, но увеличивает ростовую реакцию в ответ на действие 543 нм (рис. 1), тогда как *cry1* может регулировать реакции на ЗС с длиной волны 524.5 нм (рис. 2).

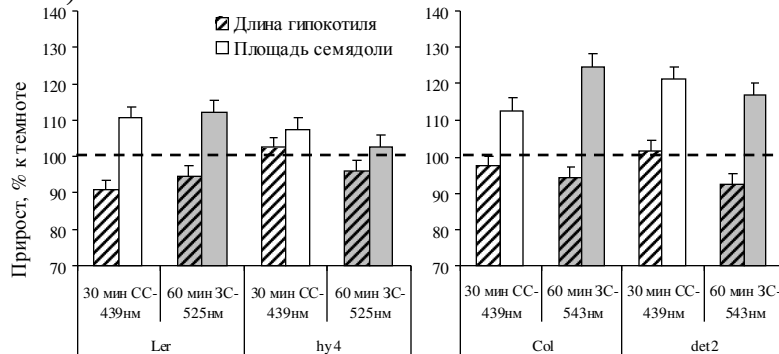


Рисунок 2 – Ростовые параметры 7-дневных проростков арабидопсиса при деэтиоляции на зеленом и синем свете (60 мин ЗС – 524.5 и 543 нм, 30 мин СС – 439 нм, 3 мкМ квант/м<sup>2</sup>с, 50% МС)

Деэтиоляция на ЗС проростков *det2* и *Col*, различающихся по уровню эндогенных БР, была более эффективна для роста семядолей, чем гипокотилей обеих линий (рис. 1б). В то же время меньшая чувствительность к ЗС ростовых реакций семядолей у мутанта *det2*, чем у дикого типа, возможно, связана с недостатком БР, поддерживающих рост семядолей на свету и тем самым участвующих в трансдукции сигнала ЗС.

Сопоставляя действие ЗС и СС на рост проростков, показали, что рост семядолей Col на ЗС (543 нм, 60 мин) двукратно превышал рост на СС (439 нм, 30 мин) той же интенсивности (рис. 2), что свидетельствовало о близкой чувствительности проростков арабидопсиса экотипа Columbia к ЗС и СС. В то же время действие ЗС на рост семядолей Ler было одинаковым с действием СС, что указывало на меньшую чувствительность проростков арабидопсиса экотипа Landsberg erecta к ЗС, чем к СС. Таким образом, рост проростков арабидопсиса при деэтиоляции зависел от генотипа, длины волны и интенсивности ЗС. Тканеспецифичность действия ЗС проявилась в большей чувствительности к нему семядолей Ler, Col и det2, чем гипокотилей.

### **Морфогенез растений при адаптации к зеленому свету**

При адаптации *A. thaliana* к ЗС (500–600 нм, 48 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) прирост семядолей и ингибирование роста гипокотилей у мутантов *hy4*, *hy3*, *hy1* и *ga4-1* снижались, по сравнению с исходной линией Ler (Головацкая, 2008а; Головацкая, Карначук, 2008). На ЗС замедлялось растяжение листьев и стебля и переход растений мутантов в генеративную стадию, определяя их низкую продуктивность и свидетельствуя в пользу участия *sgu1*, *phyA-E* и ГК в регуляции ростовых процессов и развития на средневолновом участке ФАР. ЗС (500–600 нм, 96 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) одинаково ингибировал растяжение гипокотилей 7-дневных проростков Col и *det2*, тогда как растяжение семядолей происходило с меньшей скоростью у мутанта с дефицитом БР.

При выращивании растений двудольных (бадан, левзея, лихнис, серпуха) и однодольных (овес, овсюг) на СС, ЗС и КС (327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) установили, что наибольшие различия по общей листовой поверхности между растениями световых вариантов были характерны для медленно растущих видов (бадан), а по числу клеток в единице площади листа – для быстро растущих видов (лихнис) (рис. 3) (Карначук, Головацкая, 1998).

Действие ЗС, в отличие от СС и КС, ингибировало деление клеток мезофилла листа у двудольных растений (бадан, левзея, лихнис). На ЗС наблюдали торможение растяжения клеток и формирование самой маленькой по объему клетки по сравнению с СС и КС (лихнис, левзея). Растяжение листа на ЗС без увеличения числа и размеров клеток мезофилла приводило к формированию более тонкой листовой пластинки (рис. 3) с меньшей сухой биомассой, чем на других участках спектра. Специфическая дифференциация мезофилла листа отмечена на ЗС как у молодых, так и у взрослых листьев лихниса и левзеи, при которой число клеток палисадной паренхимы было меньше, чем на КС и СС. Опираясь на представления об ассимиляционной роли палисадной паренхимы листа растений на БС и эвакуационной – губчатой паренхимы (Мокроносов и др., 1973; Мокроносов, 1981), можно объяснить снижение интенсивности ассимиляции CO<sub>2</sub> на ЗС.

Клетки ассимиляционной ткани листа, сформированного на ЗС, упакованы менее плотно, чем на СС. Объем межклеточного пространства после завершения роста (на примере бадана) составил 37.5% на ЗС, тогда как на СС, КС и БС соответственно 35.0, 39.2 и 38.4%.

У однодольных по сравнению с двудольными отмечены особенности в фор-

мировании листа: увеличение длины и площади первого листа на основе клеточного деления на ЗС и КС было продолжительнее (овес и овсюг – 7–9 суток), чем на СС (овес и овсюг 5–7 суток). Показано одинаковое влияние ЗС и КС на растяжение продольной оси листа овсюга, тогда как эффект ЗС на удлинение листа овса имел промежуточное значение между эффектами КС и СС.

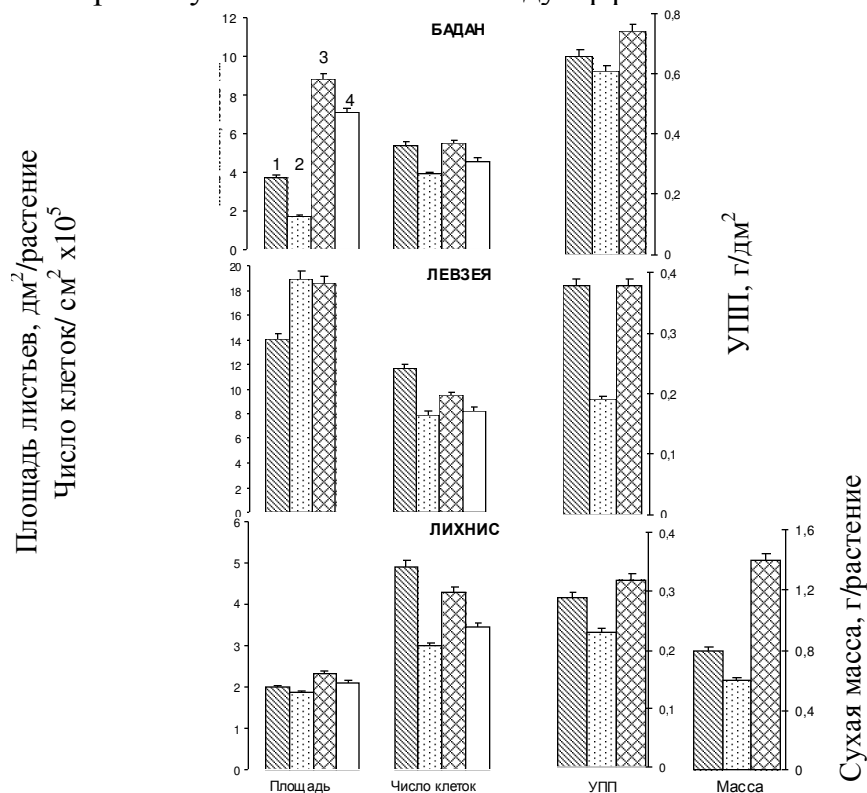


Рисунок 3 – Суммарная площадь листьев, число клеток, удельная поверхностная плотность (УПП) и сухая масса целого растения на селективном свете (327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с; 1 – СС, 2 – ЗС, 3 – КС, 4 – БС): возраст растений – 6, 2.5 и 1.5 месяцев соответственно бадан, левзея и лихнис

Таким образом, ЗС ингибировал деление и растяжение клеток, растяжение листа двудольных растений, тогда как у однодольных эффект ЗС занимал промежуточное положение между эффектами КС и СС. Можно предполагать, ЗС включает специфические регуляторные системы, контролирующие рост листа.

#### ***Физиологическая адаптация растений к зеленому свету***

Известно, что КС и СС контролирует формирование фотосинтетического аппарата растений (Воскресенская, 1975; Карначук, 1987). Согласно нашим данным, при адаптации листьев к ЗС происходит значимое снижение плотности распределения пластид в единице поверхности листа в связи с уменьшением количества клеток по сравнению с КС и СС (табл. 1) (Карначук, Головацкая, 1998).

Суммарная поверхность хлоропластов в одной клетке на ЗС изменялась в зависимости от вида растения, тогда как в расчете на единицу площади взрослого листа однозначно снижалась у всех растений. Эти морфологические изменения, вероятно, и отражались на результирующем показателе – интенсивности фотосинтетического поглощения CO<sub>2</sub> единицей поверхности листа растений, выросших на ЗС.

Анализируя световые кривые, полученные для листьев адаптированных к ЗС растений, следует отметить равную или близкую по значению скорость ассимиляции углекислоты при ненасыщающих интенсивностях БС (60 Вт/м<sup>2</sup>) по сравнению с листьями, сформированными на КС и СС (рис. 4). Однако, световая кривая фотосинтеза листьев, сформированных на ЗС, выходила на плато при более низких интенсивностях БС, чем у листьев, сформированных на СС или КС. В результате наблюдалась меньшая фотосинтетическая продуктивность поверхности листа, сформированного на ЗС.

Таблица 1 – Ростовые параметры хлоропластов взрослого листа растений, выращенных на свету разного спектрального состава (327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с)

Параметры	Свет		
	Синий	Зеленый	Красный
<u><i>Бадан толстолистный</i></u>			
Число хлоропластов в клетке, шт.			
– <i>палисадной ткани</i>	62.4±1.75	70.0±1.84	60.0±1.33
– <i>губчатой ткани</i>	35.9±1.14	34.8±0.87	37.8±0.92
Объем одного хлоропласта, мкм <sup>3</sup>	48.6±1.62	57.4±2.17	54.1±2.31
Поверхность одного хлоропласта, мкм <sup>2</sup>	63.6±1.51	71.0±1.85	67.8±2.02
Суммарная поверхность хлоропластов, %			
– <i>на одну клетку палисадной ткани</i>	100	125	102
– <i>на см<sup>2</sup> палисадной и губчатой ткани*</i>	100	88	104
<u><i>Левзея сафлоровидная</i></u>			
Число хлоропластов в клетке, шт.			
– <i>палисадной ткани</i>	28.9±0.63	26.4±0.55	31.0±0.71
– <i>губчатой ткани</i>	33.3±0.75	34.4±0.87	40.9±1.21
<u><i>Лихнис хальцедонский</i></u>			
Число хлоропластов в клетке, шт.			
– <i>палисадной ткани</i>	43.3±1.42	45.5±1.32	52.8±1.33
– <i>губчатой ткани</i>	46.9±1.78	45.2±1.68	37.9±1.71
Объем одного хлоропласта, мкм <sup>3</sup>	73.6±3.81	53.2±2.04	59.7±1.83
Поверхность одного хлоропласта, мкм <sup>2</sup>	82.5±2.91	66.4±1.67	73.2±1.54
Суммарная поверхность хлоропластов, %			
– <i>на одну клетку палисадной ткани</i>	100	84	108
– <i>на см<sup>2</sup> палисадной и губчатой ткани*</i>	100	49	82

Примечание: \* – поверхность хлоропластов, рассчитанная как произведение поверхности хлоропластов одной клетки на число клеток в см<sup>2</sup> поверхности листа.

Скорость диффузии СО<sub>2</sub> к хлоропластам во многом определялась плотностью устьиц в см<sup>2</sup>, так на нижнем эпидермисе листа бадана толстолистного, растущего на ЗС, число устьиц занимало промежуточное положение (3198.0 ± 192.0) между их количеством на СС (4335.0 ± 165.6) и КС (2924.0 ± 142.0).

Отмечено минимальное накопление фотосинтетических пигментов в единице площади листьев лихниса, сформированных на ЗС, и значительное – на СС. Однако, наибольшая сумма хлорофиллов в расчете на один хлоропласт приходилась на пластиды, сформированные на средневолновом участке ФАР, возможно в большей степени за счет антенны, так как фотовосстановительная активность (мг ДХФИФ/мг Хл ч) хлоропласта, сформированного на ЗС, уступала активности хлоропласта с КС и СС. Расчет *интенсивности фотосинтетиче-*



ского поглощения  $CO_2$  отдельным хлоропластом ( $mg\ CO_2 \cdot 10^{-9}/\text{хлоропласт}\ \text{ч}$ ) показал, что формируется достаточно активный матриксный аппарат хлоропласта на ЗС. В процессе адаптации растений к ЗС выделились 2 группы растений, различающихся по удельной максимальной фотосинтетической активности хлоропласта ( $mg\ CO_2 \cdot 10^{-9}/\mu\text{км}^3\ \text{ч}$ ). В первую группу попали растения с активностью равной таковой на КС (бадан, левзея, лихнис), во вторую – на СС (серпуха). В пределах первой группы растения, адаптируясь к ЗС по сравнению с КС, увеличивали количество хлоропластов в клетке без изменения их объема (бадан), уменьшали количество с увеличением объема единичного хлоропласта (левзея), уменьшали объем органелл без изменения их количества (лихнис). В пределах второй группы растения, адаптированные к ЗС по сравнению с СС, уменьшали количество хлоропластов при равном их объеме (серпуха).

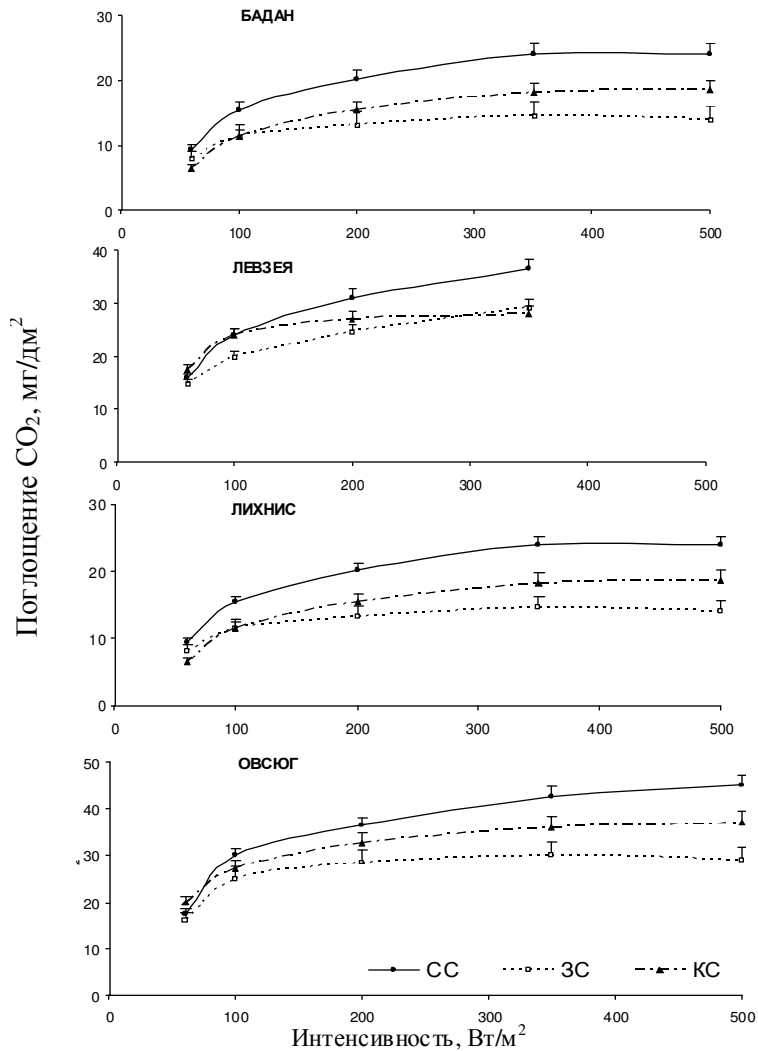


Рисунок 4 – Световые кривые фотосинтеза на белом свете при 0,04%  $CO_2$ , рассчитанные на единицу площади взрослого листа растений, адаптированных к селективному свету (327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с)

Формирование фотосинтетического аппарата на ЗС зависело от содержания эндогенных фитогормонов (БР) и состава фоторецепторов (*cry1*). У проростков БР-дефицитного мутанта *det2* арабидопсиса отмечено преимущество по содер-

жанию пигментов в семядолях по сравнению с диким типом (табл. 5), тогда как у мутанта *hy4* снижалась абсолютная величина содержания *Kar*, *Xla* и *Xlb* (табл. 6, 7). Последние отличия, вероятно, связаны с нарушением трансдукции сигнала ЗС у мутанта, в связи с отсутствием *cru1*. Увеличение интенсивности ЗС от 48 до 96 мкМ/м<sup>2</sup>с приводило к выравниванию содержания желтых и зеленых пигментов между линиями (табл. 7). Это свидетельствовало о компенсации недостатка *cru1* в проростках *hy4* за счет включения дополнительных регуляторных и энергетических систем, функционирующих на ЗС высокой интенсивности и обуславливающих дополнительный биосинтез пигментов фотосинтеза.

Таким образом, ЗС тормозил процессы деления и растяжения клеток, как у однодольных, так и двудольных. Однако, если в листе двудольных на этом участке ФАР отмечено максимальное торможение деления клеток, то в листе однодольных деление было продолжительнее и активнее по сравнению с листом на СС. В процессе адаптации листа двудольных к длительному воздействию ЗС происходили перестройки его мезоструктуры, связанные с сокращением общего числа клеток и числа клеток палисадной паренхимы, по сравнению с СС и КС. Различия ростовых реакций растений разных видов в ответ на действие селективного света дают основание считать, что тканевый уровень организации фотосинтетического аппарата способствует адаптации и успешной продукционной деятельности растений.

#### ***Регуляторная роль ЗС в составе смешанного светопотока на морфогенез и гормональный баланс растений***

В практике и научных исследованиях в качестве эффективных селективных фильтров электромагнитного излучения находят применение светокорректирующие (СК) полимерные пленки (Минич и др., 1992, 2003; Толстикова, 1998; Астафурова и др., 2003). Такие пленки за счет введения в их состав фотолюминофоров на основе соединений европия преобразуют часть длинноволнового УФ-излучения в красную или синюю область спектра (Райда и др., 2003), снижая долю УФ, СС и ЗС. В связи с этим, целью этой части работы явилось изучение влияния ЗС в смешанном светопотоке на рост и развитие растений.

Наши многолетние испытания в вегетационных сооружениях и лабораторных фитотронах, покрытых СК-пленками, показали, что хозяйственная продуктивность растений повышалась на 10–90% относительно контрольного базового покрытия. Растения *томатов* и *огурцов*, выращенные под СК-покрытиями, отличались от контрольных быстрым развитием, высоким урожаем и качеством плодов (Головацкая и др., 2002). Скрининг ростовых реакций растений *капусты*, выращенных под СК-пленками с разными спектрами пропускания, показал, что наибольшая площадь листьев, количество клеток в расчете на лист и сухая биомасса формировались под пленками, снижающими долю УФ, СС и ЗС и имеющими стабильную люминесценцию в красной области спектра (Ф-15, Ф-16, Ф-13 и Ф-10). Увеличение доли КС в СК-пленках приводило к повышению содержания *Xla* в расчете на тыс. клеток листа растения капусты, а доли СС и ЗС в светопотоке (Ф-13 и Ф-8) – к росту числа ярусов. Для получения рассады капусты технической зрелости были рекомендованы СК-пленки марки Ф-10 и Ф-13, различающиеся между собой по уровню люминесценции в красной об-

ласти спектра в 4.5 раза и по пропусканию УФ (на 8 %), СС и ЗС (на 8 %). Практически одинаковая эффективность пленок Ф-13 (с меньшей люминесценцией в красной области спектра на фоне более низкой интенсивности УФ, СС и ЗС) и Ф-10 (большая доля всех перечисленных областей спектра) позволила предположить зависимость процессов роста и развития не только от красной области спектра, но и от доли УФ, СС и ЗС в светопотоке.

Исследование механизма фоторегуляции растений с применением СК-пленок, проведенное на модельной системе – световые мутанты *Arabidopsis thaliana*, показали зависимость протекания процессов жизненного цикла растениями (вегетативный рост, плодоношение и семенная продуктивность) от их гормонального баланса (Минич, ... Головацкая и др., 2006).

Таким образом, применение СК-пленок экономически более рентабельно (прибавка урожая, длительные сроки вегетации растений и эксплуатации пленок) по сравнению с обычными пленками. Использование СК-пленок позволяет целенаправленно изменять спектральный состав солнечного света, что перспективно в качестве инструмента исследования фоторегуляции растений и для обеспечения быстрого внедрения результатов в практику. В качестве модели для лабораторного биологического тестирования условий под СК-пленками нами рекомендованы световые мутанты *A. thaliana*.

### **ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОМОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ**

Реализация специфической программы морфогенеза растений во многом зависит от гормональной системы регуляции. Так, цитокинины (ЦК) поддерживают фотоморфогенез, а ГК и БР – этиоляцию гипокотилей (Chory et al., 1994; Neff et al., 1999; Alabady et al., 2004). Под действием света меняется метаболизм ГК и АБК, чувствительность к ГК. Мутанты арабидопсиса с нарушенным фоторецептором КС, *phyb*, характеризуются повышенной чувствительностью к ГК (Reed et al., 1996). В настоящее время недостаточно изучен баланс эндогенных гормонов целого растения в процессе его онтогенеза. Отсутствуют данные о динамике и взаимосвязи гормонального статуса растений с их ростом в процессе выполнения разных программ ското- и фотоморфогенеза, а также о специфике действия ЗС на гормональный комплекс.

#### **Гормональный статус растений и фотоморфогенез**

Согласно нашим данным, действие света изменяло реализацию программы развития растений через изменение скорости и продолжительности роста отдельных органов растений (рис. 1–3). В качестве механизмов реализации светового воздействия выступали модификации статуса фитогормонов ИУК, ЦК, АБК, ГК<sub>1+3</sub> и ГК<sub>4+7</sub>. Активное растяжение этиолированного листа овса без разворачивания листовой пластинки (4–5-е сутки) сопровождалось повышенным содержанием свободных форм ИУК, ГК<sub>1+3</sub> и АБК и связанных форм ГК<sub>4+7</sub>, а в более поздний период (7–9-е сутки) существенным увеличением уровня свободной ИУК, но снижением уровней свободных форм ГК<sub>1+3</sub> и АБК. Действие света увеличивало зависимость роста листа и coleoptily от уровня ГК. Обнаруженное нами высокое содержание ауксинов в растущем листе овса предшествовало высокому уровню свободных ГК, вероятно, обуславливая регуляцию роста жилок и влагалища листа (Дерфлинг, 1985). Ведущими факторами, кон-

тролирующими уровень гормонов в проростках овса, выступали *возраст* и *свет* (дисперсионный анализ) (Головацкая и др., 2000).

Замедление роста этиолированных первичных листьев *фасоли* сопровождалось низким содержанием ИУК, ГК<sub>1+3+4+7</sub> и АБК и более высоким уровнем зеатина на 7-е сутки (Головацкая, Карначук, 2007). Формирование листьев на свету было сопряжено с повышением содержания свободных форм ИУК и ГК, свободных и связанных форм АБК и РЗ. Наибольшее содержание ГК было характерно для листьев *фасоли* в период окончания их роста, тогда как в листьях овса – во время их интенсивного роста и развертывания. Участие ГК в росте листа связывают с иницированием примордия, изменением длины и формы пластинки, ростом мезофилла (Дерфлинг, 1985; Fleet, Sun, 2005). Для деления клеток мезофилла молодого листа *фасоли* на свету ЦК (зеатин и РЗ) были необходимы в более низких концентрациях, чем для роста растяжением на более поздних этапах развития листа, что согласуется с данными для листа *Cucurbita pepo* (Роньжина, 2003). Различия размеров листовой пластинки *фасоли* в присутствии ЦК в темноте и на свету могут быть связаны с разным обеспечением углеводами (Кулаева, 1982).

В периоды интенсивного роста длины и биомассы корней и листьев *фасоли* на свету и гипокотилей в темноте происходило увеличение уровня АБК, возможно, участвующей в оптимизации роста через поддержание осмотического гомеостаза (Finkelstein, Gampala, Rock, 2002) или координацию ростовых процессов.

Наши расчеты показали высокую степень корреляции между биомассой и длиной всех частей растений *фасоли*, выросших в темноте, и содержанием ИУК, а выросших на свету – с содержанием зеатина. Удлинение и накопление биомассы гипокотилей растений в темноте имело сильную связь с содержанием ГК ( $r=0.82$  и  $0.85$  соответственно), что аналогично у *Pisum sativum* L. (Alabady et al., 2004). Действие света изменило взаимосвязь ростовых параметров и содержания эндогенных фитогормонов (Головацкая, Карначук, 2007). Найдена положительная взаимосвязь ростовых параметров корней с содержанием всех групп гормонов, гипокотилей – с содержанием зеатина. Параметры эпикотилей отрицательно коррелировали с содержанием ГК ( $r=-0.69$ ), тогда как параметры первичных листьев положительно с уровнем ГК ( $r=0.93$ ) и зеатина ( $r=0.95$ ).

#### ***Действие зеленого света на гормональный статус растений при деэтиоляции***

Изменения морфогенеза растений при деэтиоляции на ЗС были сопряжены с изменениями гормонального комплекса (табл. 2). В более чувствительном к ЗС листе *фасоли* для повышения уровня ИУК и ГК<sub>9</sub> требовалось меньшей продолжительности действие ЗС (1 мин), чем в листе *овса* (30 мин). В то время как для увеличения АБК потребовалось большее время действия ЗС (16 ч) (Карначук, Негрецкий, Головацкая, 1990; Карначук, Головацкая, 1998; Головацкая, 1998, 2005).

Деэтиоляция на ЗС изменила гормональный баланс проростков *A. thaliana*, увеличивая содержание свободных и связанных форм трех ГК у *Ler* и свободных форм ГК<sub>4+7</sub> и ГК<sub>9</sub>, частично за счет высвобождения из связанного состоя-

ния (рис. 5). Другими авторами показана стимуляция биосинтеза ГК светом с участием фитохрома (Reid et al., 1968; Evans, Smith, 1976; Cooke et al., 1975; Moore, 1989; Yamaguchi et al., 1998; Kamiya, Garcia-Martinez, 1999; Yamaguchi, Kamiya, 2000).

Таблица 2 – Сравнительная характеристика уровня свободных гормонов и роста первого листа растений при кратковременном и длительном освещении светом разного качества (к темноте)

Гормоны	Фасоль								Овёс					
	Продолжительность освещения													
	1 мин			30 мин			16 ч*		1 мин			30 мин		
	СС	ЗС	КС	СС	ЗС	КС	ЗС	КС	СС	ЗС	КС	СС	ЗС	КС
РЗ												+	0	+
ИУК	--	++	--	-	-	0	-	-	-	0	--	+	+	--
ГК <sub>1+3</sub>	+	---	+				0	0	0	-	++++	0	--	+++
ГК <sub>4+7</sub>	+	-	0				-	+	+++	+	+	+++	0	+
ГК <sub>9</sub>	0	++	0				0	0	0	0	++	+++	++	0
АБК	--	--	-	-	-	+	+	+	++	+	0	+	++	0
Рост				+	+-	++	++	++				+	0	+

Примечание: активирующее действие света (+), отсутствие действия света (0), ингибирующее действие света (-).\* – в течение 10 суток.

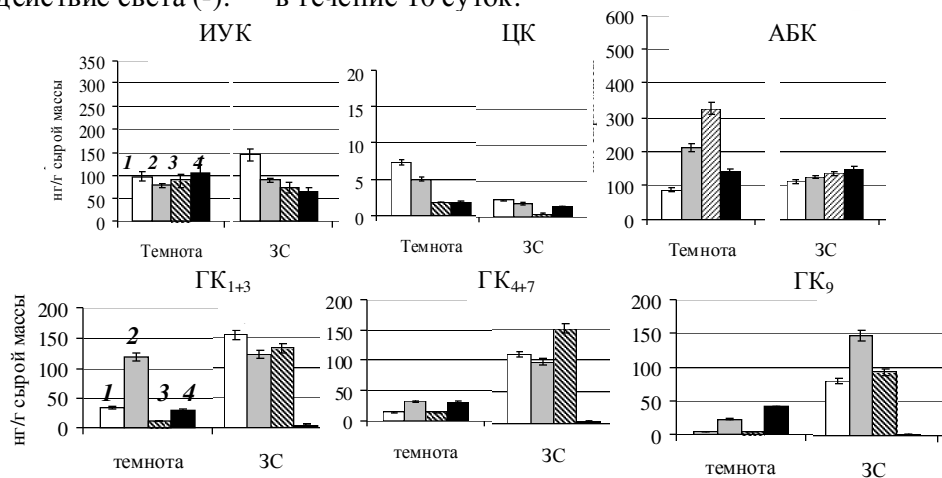


Рисунок 5 – Содержание свободных (1, 2) и связанных (3, 4) форм ИУК, АБК, ГК, а также зеатина (1, 2) и рибозида зеатина (3, 4) (ЦК) в 7-дневных проростках арабидопсиса *Ler* (1, 3) и *hy4* (2, 4) при деэтиоляции на зеленом свете (543 нм, 3.7 мкМ квант/м<sup>2</sup>с; 60 мин)

ЗС снижал уровень ЦК (зеатина и РЗ) и увеличивал содержание свободных форм ИУК и АБК у *Ler* (табл. 6, +*cry1*), что аналогично реакции листа овса (табл. 2). Снижение уровня ЦК, поддерживающих деэтиоляцию даже в отсутствии света (Chou et al., 1994), вероятно, свидетельствовало о неполной реализации программы фотоморфогенеза на ЗС.

Нарушение функционирования *cry1* у мутанта *hy4* (табл. 6, -*cry1*) видоизменяло гормональный ответ (уменьшение уровня АБК и сохранение темнового уровня ГК<sub>1+3</sub> и ИУК) на действие ЗС по сравнению с *Ler*, что позволило предположить связь трансдукции ЗС в растении арабидопсиса с участием фитогормонов и фоторецептора.

### Гормональный статус растений при адаптации к зеленому свету

Длительное действие ЗС высокой интенсивности снижало уровень ГК и ИУК, и увеличивало АБК в молодых листьях лихниса и левзеи, более компетентных к гормонам, что обуславливало замедление роста листа по сравнению с КС и СС (рис. 6). Повышение уровня гормонов во взрослом листе свидетельствовало о замедлении ЗС их синтеза на ранних стадиях развития листа (Головацкая и др., 1988; Карначук, Протасова, Головацкая, 1988; Карначук, Головацкая, 1998; Головацкая, 2001).

Длительное действие ЗС (16 ч) меньшей интенсивности на фасоль восстанавливало этиолированный уровень свободной  $GK_{1+3}$ , уменьшающийся при кратковременном освещении этиолированного листа, одновременно снижая активность свободных и связанных форм  $GK_{4+7}$  и свободной  $GK_9$  (см. табл. 2).

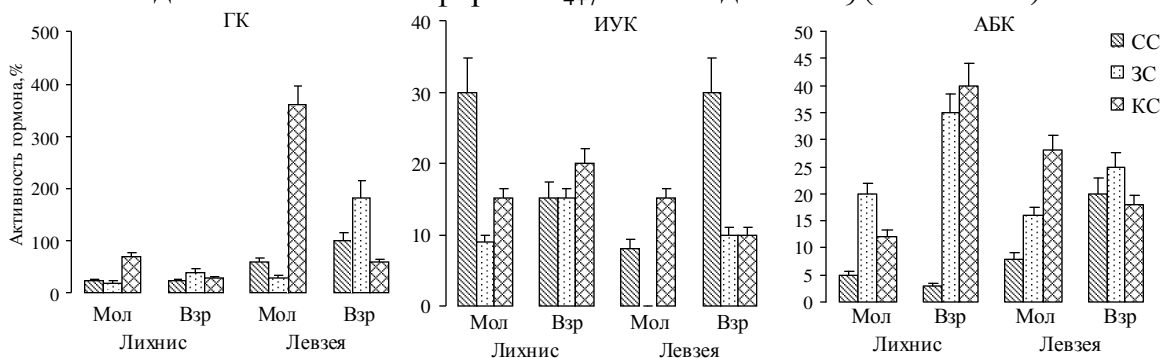


Рисунок 6 – Активность свободных форм ИУК, АБК и ГК в молодых и взрослых листьях лихниса хальцедонского и левзеи сафлоровидной, адаптированных к свету разного спектрального состава (327 мкМ квант/м<sup>2</sup>с)

Низкорослые растения лихниса на ЗС характеризовались более низким уровнем (в 8 раз) ИУК, АБК и их отношением по сравнению с СС (рис. 7а).

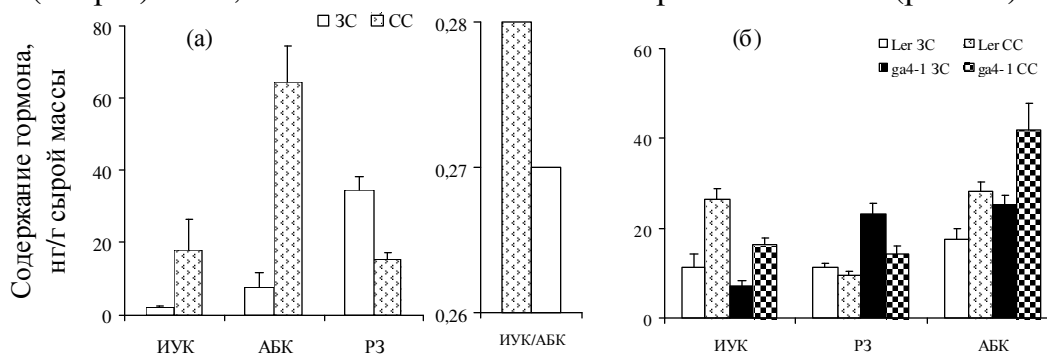


Рисунок 7 – Влияние синего и зеленого света (48 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) на содержание и соотношение фитогормонов в 60-дневных растениях *L. chalconica* (а) и *A. thaliana* (б)

Недостаток активных форм эндогенных  $GK_{1/4}$  в растениях мутанта *ga4-1* обуславливал снижение содержания эндогенной ИУК и повышение содержания РЗ и АБК, при выращивании как на ЗС, так и на СС, по сравнению с уровнем гормонов исходной линии (рис. 7б). Такой статус гормонов был сопряжен со снятием апикального доминирования у мутанта. Кроме того, более низкое отношение ИУК/АБК у *ga4-1*, чем у *Ler* на ЗС и СС вместе с недостатком активных ГК, вероятно, обеспечивало замедление ростовых процессов. Действие ЗС

уменьшало содержание ИУК и АБК у обеих линий и увеличивало содержание РЗ у *ga4-1*, по сравнению с таковым на СС. В соответствии с нашими данными (Головацкая, 2008) об увеличении дефицита ИУК у *ga4-1* на ЗС и данными о взаимодействии ГК и ИУК на уровне их биосинтеза (Ogawa et al., 2003) можно предположить ингибирующее действие ЗС на синтез ГК.

Сопоставляя динамику активности гормонов в листе на спектральном свете в качестве возможной нормы реакции данного признака на действие света, показали бóльший диапазон колебаний активности гормонов (ГК) у крупнолистного растения (левзея), чем у мелколистного (лихнис).

В молодом листе растений, выступающем в качестве акцептора питательных веществ и гормонов, изменение активности ГК и АБК на ЗС и СС подобно у обоих видов. На ЗС, по сравнению с СС, меньшему уровню ГК соответствует больший уровень АБК. В отношении ИУК отмечена видоспецифичность: меньшему уровню ГК соответствует больший уровень ИУК (левзея) или меньший ИУК и РЗ (лихнис). Во взрослом листе, проявляющем большую видоспецифичность в связи с особенностями донорно-акцепторных отношений элементов побега и продолжительности жизни индивидуального листа и растения, меняется взаимосвязь между гормонами. Большему уровню ГК на ЗС соответствует низкий уровень ИУК и больший АБК по сравнению с СС. Из этого следует, что ЗС контролирует рост и развитие листа и целого растения через регуляцию синтеза и модификации фитогормонов.

### **ЗЕЛЕНЬ СВЕТ И ЭКЗОГЕННЫЕ ФИТОГОРМОНЫ В РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ**

#### **Действие стероидных гормонов на фотоморфогенез растений *Arabidopsis thaliana***

Стероидные гормоны растений, brassinosteroids (БР), стимулируют удлинение побега, рост пыльцевой трубки, дифференцировку ксилемы и эпинастию, тормозят рост корня (Mandava, 1988; Платонова, Кораблева, 1993, 1998; Clouse, Sasse, 1998; Thummel, Chory, 2002), контролируют фотосинтез и фотоморфогенез (Cosgrove, 1986; Хрипач, Лахвич, Жабинский, 1993; Clouse, Sasse, 1998; Mussig et al., 2002; Yin et al., 2002; Федина и др., 2008), повышают урожай и устойчивость злаков (Ikebawa, Zhao, 1981; Cutler et al., 1991; Пруссакова, Чижова, 1996; Шакирова, 2001). БР регулируют удлинение клеток через активацию протонных насосов, в том числе вакуолярной V-АТФ-азы (Ho et al., 1993; Finbow, Harrison, 1997; Schumacher et al., 1999; Озолина и др., 1999; Прадедова и др., 2002). Под действием БР также экспрессируются гены, кодирующие белки, связанные с клеточной стенкой и участвующие в ее росте, в том числе ксилоглюкан эндотрансгликозилазу, эндо-1,4-глюканазу, полигалактуронидазу, пектин метилэстеразу, и экспансин (Yin et al., 2002).

Экспериментально нами установлено, что БР обладают мощным регуляторным действием в малых концентрациях. Сопоставляя ростовые реакции *Col*, *Ler*, *det2* и *hy4* арабидопсиса на действие различных экзогенных БР (ЭБЛ – 24-эпибрассинолид, ГБЛ – 28-гомобрассинолид, БЛ – брассинолид), показали наибольшую чувствительность к БР дефицитных по эндогенным БР проростков *det2* (Головацкая, 2004б). Активность БЛ в регуляции роста оказалась досто-

верно выше активности ЭБЛ и ГБЛ при малых концентрациях ( $10^{-9}$ – $10^{-8}$ М) (рис. 8а). Действие БЛ в высоких концентрациях замедляло рост ( $10^{-6}$ М) или ингибировало прорастание семян ( $10^{-5}$ М). Проростки исходных линий Col и Ler при действии БР в концентрации выше  $10^{-8}$ М укорачивали гипокотили. Величина эффекта зависела от генотипа и активности БР. Более активные БР ингибировали растяжение гипокотилия у Col при меньшей концентрации ( $10^{-7}$ М БЛ), чем менее активные ( $10^{-6}$ М ЭБЛ и ГБЛ). Наличие мутации гена *ERECTA* у Ler повышало чувствительность к БР, которые были активны в меньших на порядок концентрациях, чем у Col.

Эффективность действия ЭБЛ на растяжение гипокотилей *det2* арабидопсиса (рис. 8а) была выше, чем сегментов coleoptилей пшеницы (рис. 8б) (Головацкая, 2004а, 2004б).

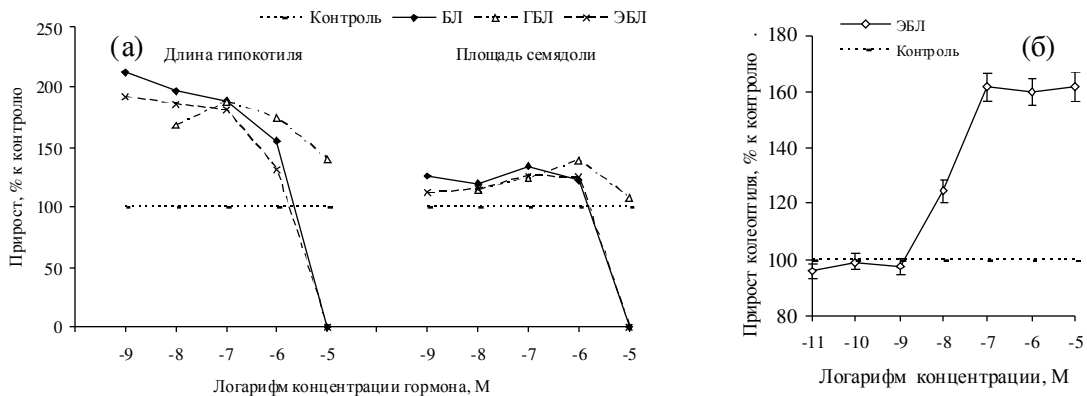


Рисунок 8 – Эффективность разных брассиностероидов в регуляции роста 7-дневных проростков *det2* арабидопсиса (а) и сегментов coleoptилей 3-дневных проростков пшеницы сорта Тулунская (б) в темноте

Дискуссионным остается вопрос о независимом контроле БР и ГК процессов роста и развития растений, для которых показано поддержание скотоморфогенеза за счет репрессии фотоморфогенеза в темноте (Alabady et al., 2004). Опираясь на наши данные сравнительного анализа морфологии 7-дневных проростков и взрослых растений у ГК- и БР-дефицитных мутантов *ga4-1* и *det2* арабидопсиса, можно говорить о различных ГК- и БР-зависимых путях регуляции ското- и фотоморфогенеза (Головацкая, 2008б).

Нами установлено преимущественное значение БР для удлинения гипокотилей и корней, по сравнению с ГК<sub>4/1</sub>. У мутантов *ga4-1* и *det2* отмечена наибольшая ростовая реакция гипокотилей в ответ на недостающий гормон. Форма и размеры семядолей обеих линий зависели от экзогенного ЭБЛ, а длина корней от ГК<sub>3</sub> и ЭБЛ, что свидетельствовало об органоспецифичности в действии исследуемых фитогормонов. Совместное применение ГК<sub>3</sub> + ЭБЛ оказывало положительное аддитивное влияние на рост корней *det2*, уменьшение ингибирующего эффекта ЭБЛ на длину гипокотилей *ga4-1* и усиление эффекта ЭБЛ при растяжении гипокотилей и семядолей *det2* в темноте. Сложение эффектов ГК<sub>3</sub> и ЭБЛ и взаимное усиление их действия на рост проростков позволяет обсуждать существование и самостоятельных механизмов регуляции и взаимодействие между ними (Головацкая, 2008б).



Наши данные показали снижение на порядок чувствительности к ГК<sub>3</sub> в ряду корень – гипокотиль – семядоля у проростков *Arabidopsis*, что свидетельствовало или о жесткой регуляции корнем уровня поступающего извне гормона, или незначительной роли ГК<sub>3</sub> в росте этиолированных семядольных листьев арабидопсиса аналогично наблюдаемому нами росту этиолированных первичных листьев фасоли (Головацкая, Карначук, 2007). Кроме этого, локализация и качество морфогенетических ответов на действие экзогенных гормонов ГК<sub>3</sub> и ЭБЛ в проростках связаны с динамикой и соотношением эндогенных гормонов, инактивацией и деструкцией экзогенных гормонов на пути своего следования по растительному организму и уровней и степени пересечения вызванных ими реакций.

Для исследования роли ГК и БЛ в регуляции морфогенеза растений семена *Ler* и *ga4-1* обрабатывали 10<sup>-9</sup>М раствором БЛ на белом свете (Головацкая, Винникова, 2007). Нами экспериментально установлено, что роль ГК<sub>1/4</sub> состоит в увеличении апикального доминирования и линейных размеров вегетативных и репродуктивных органов, и сокращении продолжительности стадий жизненного цикла растения арабидопсиса при выращивании на белом свете. Действие экзогенного БЛ также ускоряло развитие растений, однако восстановление семенной продуктивности мутанта *ga4-1* до уровня дикого типа происходило путем уменьшения апикального доминирования, увеличения количества боковых побегов, количества стручков, их длины и наполняемости семенами и увеличения общей длины побегов. Действие экзогенного БЛ частично компенсировало недостаток активных форм ГК<sub>1/4</sub>. В качестве компенсаторных механизмов выступал определенный баланс эндогенных фитогормонов (ИУК, ЦК и других), формирующийся при действии экзогенного гормона.

Светозависимое действие БР на жизнедеятельность растений вызывает интерес к исследованию ростовых реакций в ответ на действие БР у растений *Ler* и *hy4* арабидопсиса, различающихся по составу функционирующих фоторецепторов. Решая вопросы повышения продуктивности растений, применяли различные способы обработки экзогенным БЛ (Головацкая, Никонорова, 2007, 2008). Предпосевная (10<sup>-9</sup>М), внекорневая (10<sup>-11</sup> М) и двойная обработки БЛ сокращали продолжительность фаз онтогенеза, стимулировали ветвление побегов, увеличивали количество стручков и их наполняемость семенами, что определяло повышение семенной продуктивности обеих линий. Наиболее оптимальное действие оказывала двойная обработка БЛ. Действие БЛ у растений мутанта *hy4* частично восстанавливало фенотип дикого типа *Ler*, компенсируя отсутствие криптохрома 1. Ускорение развития растений и повышение семенной продуктивности арабидопсиса позволило рекомендовать предпосевную или двойную обработку БЛ для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур.

От уровня эндогенного и экзогенного БР и фоторецепторов зависело содержание фотосинтетических пигментов в семядолях арабидопсиса. Недостаток эндогенных БР у *det2* обуславливал повышение содержания желтых (темнота, ЗС) и зеленых пигментов (ЗС; табл. 3).

Таблица 3 – Влияние 28-гомобрасинолида ( $10^{-6}$ М ГБЛ) на содержание фотосинтетических пигментов в семядолях 7-дневных проростков арабидопсиса на ЗС (14 ч)

Линия	Условия выращивания	Содержание пигментов, мг/семядоля $\times 10^{-2}$			
		<i>Хла</i>	<i>Хлб</i>	<i>Хла/Хлб</i>	Каротиноиды
Col	Темнота	–	–	–	0.8±0.1
	Темнота + ГБЛ	–	–	–	1.4±0.2
	ЗС	7.5±0.6	4.0±1.2	1.90	4.7±0.3
	ЗС + ГБЛ	4.7±0.5	2.0±0.4	2.41	3.0±0.4
<i>det2</i>	Темнота	–	–	–	1.3±0.1
	Темнота + ГБЛ	–	–	–	0.6±0.1
	ЗС	11.5±0.1	3.3±0.1	3.54	7.2±0.2
	ЗС + ГБЛ	5.6±1.0	1.7±0.2	3.39	3.9±1.0

Экзогенный ГБЛ на ЗС снижал уровень каротиноидов (*Кар*) и хлорофиллов у Col и *det2*. Увеличение отношения *Хла/Хлб* в проростках дикого типа, вероятно, свидетельствовало об относительном уменьшении доли ССК II в пигментном аппарате хлоропласта (Бухов и др., 1998). Такой эффект, вероятно, объяснялся получением растением информации о достаточно высокой световой энергии, то есть можно предполагать, что ГБЛ участвовал в трансдукции ЗС, дополнительно активируя светорегулируемые гены.

Отсутствие *sgu1* (табл. 4) на ЗС обуславливало снижение содержания желтых и зеленых пигментов у проростков *hy4*, относительно *Ler*, при одинаковой величине *Хла/Хлб*. БЛ восстанавливал у *hy4* уровень фотосинтетических пигментов дикого типа. Наблюдаемое изменение уровня пигментов позволило предположить, что мутация *HY4* изменяет трансдукцию сигнала ЗС, а экзогенный БР восстанавливает ее соответственно дикому типу, участвуя в ней.

Таблица 4 – Влияние брасинолида ( $10^{-7}$ М БЛ) на содержание фотосинтетических пигментов в семядолях 7-дневных проростков арабидопсиса на зеленом свету (16 ч)

Линия	Условия выращивания	Содержание пигментов, мг/семядоля $\times 10^{-2}$			
		<i>Хла</i>	<i>Хлб</i>	<i>Хла/Хлб</i>	Каротиноиды
<i>Ler</i>	Темнота	–	–	–	0.7±0.2
	ЗС	11.8±0.6	4.4±0.3	2.7±0.2	6.3±0.4
	ЗС + БЛ	12.5±0.3	4.7±0.2	2.7±0.2	6.7±0.2
<i>hy4</i>	Темнота	–	–	–	0.7±0.2
	ЗС	8.6±0.9	3.1±0.2	2.8±0.1	4.7±0.4
	ЗС + БЛ	11.3±1.1	4.0±0.5	2.9±0.2	6.3±0.6

Согласно нашим данным, снижение уровня эндогенных БР у проростков мутанта *det2* (табл. 5, -БР) изменяло величины гормональных ответов на действие ЗС, по сравнению с исходной линией (+БР), сохраняя направление световых реакций (исключение, зеатин). Под действием экзогенного БР отмечена позитивная тенденция в изменении уровня ИУК (-) и АБК (+) по отношению к ЗС (-- и соответственно). Однако у *det2* не восстанавливался гормональный статус проростков дикого типа, что показало важность определенного уровня эндогенных БР для формирования гормональной системы регуляции растений. Направление

действия БЛ на динамику содержания зеатина и АБК (Col, +БР) и ЦК и ИУК (det2, -БР) было подобно направлению действия ЗС.

Таблица 5 – Сравнительная характеристика гормонального статуса этиолированных проростков Col (+ БР) и *det2* (- БР) арабидопсиса экотипа Columbia при действии гормонального (БЛ) и светового (ЗС) сигнала (к темноте)

Фактор		ЗС	БЛ	ЗС	БЛ
БР		+ БР		- БР	
Эндогенные фитогормоны	Зеатин	+	+	--	--
	РЗ	-	+	--	--
	свободная ИУК	-	o	--	-
	свободная АБК	--	-	-	+

Примечание: активирующее действие (+), отсутствие действия (o), ингибирование (-).

Действие экзогенного ЭБЛ на динамику АБК и ИУК у проростков *Ler* (табл. 6, +*cry1*) совпадало с действием ЗС по направлению. В изменении содержания ЦК наблюдалась позитивная тенденция (o) по отношению к ЗС (--). Экзогенный БР восстанавливал у мутанта *hy4* (табл. 6, -*cry1*) уровень гормонов соответственно дикому типу, вероятно, участвуя в трансдукции сигнала ЗС.

Таблица 6 – Сравнительная характеристика гормонального статуса этиолированных проростков *Ler* (+*cry1*) и *hy4* (-*cry1*) арабидопсиса экотипа Landsberg *erecta* при действии гормонального (ЭБЛ) и светового (ЗС) сигнала (к темноте)

Фактор		ЗС	ЭБЛ	ЗС	ЭБЛ
Фоторецептор		+ <i>cry1</i>		- <i>cry1</i>	
Эндогенные фитогормоны	Зеатин	--	o	-	o
	РЗ	--	o	o	-
	свободная ИУК	+	++	o	+
	свободная АБК	+	++	-	+

Примечание: активирующее действие (+), отсутствие действия (o), ингибирование (-), \* – связ. форма АБК.

Обобщая данные по динамике эндогенных фитогормонов в зависимости от ЗС и БР, установили, что нарушение гормонального баланса по содержанию и составу БР (табл. 5) компенсировалось в меньшей степени, чем недостаток фоторецептора *cry1* (табл. 6). Это свидетельствовало в пользу участия БР в качестве звена в механизме трансдукции сигнала ЗС. Вероятно, ЗС может путем компенсаторной активации других фоторецепторов с перекрывающимися функциями включать систему трансдукторов, снижающую дефицит одного из рецепторов. Недостаток гормона (БР) снижает собственно компенсаторные реакции, так как он сам с большей вероятностью участвует в их реализации.

Таким образом, показано, что БР осуществляют морфогенную функцию в растениях арабидопсиса, перекрывающуюся с функциями ГК и ЗС, и зависящую от содержания эндогенных БР и ГК и фоторецепторов в растении.

#### **Роль экдистерона в регуляции морфогенеза растений на зеленом свете**

Фитоэкдистероиды (ФЭКД) – полигидроксилированные стероиды, структурно идентичные или подобные гормонам линьки и метаморфоза насекомых и обладающие анаболическим действием на млекопитающих и человека, схожи по строению с БР. Распределение ФЭКД в растении органоспецифично и зави-

сит от стадии развития и условий произрастания (Яцук, Сегель, 1970; Ревина, Карначук, Тайлашева, 1986; Карначук, 1996). Среди ФЭКД, обнаруженных в лихнисе *L. chalcidonica* (Зибарева, 1989, 1991), присутствует экдистерон (20E).

В результате наших исследований установлено, что содержание 20E в *L. chalcidonica* зависело от качества и интенсивности света, и возраста растений. В период значительного растяжения междоузлий (фаза перехода из вегетативной стадии в генеративную) наблюдали большее содержание 20E в стебле, меньшее в розеточных листьях и незначительное в молодых листьях лихниса. Можно предположить, что биосинтез ФЭКД происходит в листьях растения, а в процессе развития они транспортируются в генеративные органы. При *выяснении физиологической роли ФЭКД* в растении мы обнаружили, что растения реагировали на обработку 20E изменением ростовых процессов, содержания пигментов фотосинтеза и активности ферментов (Головацкая, 2004). Действующие концентрации 20E существенно зависели от регулируемого процесса. Например, рост органов с осевой симметрией 20E изменял в широком диапазоне концентраций ( $10^{-13}$ – $10^{-5}$  М). При действии 20E на метаболическом уровне (активация ферментов семян и замедление старения у листьев) диапазон его действующих концентраций был ограничен, что особенно напоминало действие фитогормонов. Экзогенный 20E увеличивал количество редуцирующих сахаров в эндосперме ячменя сорта Гималайский при концентрациях  $10^{-9}$ – $10^{-7}$  М. Задержка пожелтения листьев фасоли сорта Белозерная происходила в диапазоне концентраций  $10^{-9}$ – $10^{-8}$  М 20E. Предварительная обработка колеоптилей пшеницы сорта Тулунская 20E усиливала эффект ИУК по сравнению с эффектом 20E после предобработки ИУК. Аддитивный эффект воздействия 20E и ИУК на рост колеоптилей, вероятно, обусловлен существованием двух различных механизмов действия этих веществ, тогда как синергизм мог быть опосредован тем, что 20E усиливал чувствительность ткани растения к ИУК.

Добавление 20E в присутствии низких неэффективных концентраций ЭБЛ повышало прирост колеоптилей на величину, соответствующую действию  $10^{-6}$  М 20E. В то же время на фоне высоких активных концентраций ЭБЛ экдистерон снижал его эффект на растяжение клеток, проявляя антибрассиностероидное действие. Можно предположить, что для начала действия 20E использовались рецепторы ЭБЛ. В пользу этого предположения свидетельствовали данные о структурном сходстве между 20E и БР (Lafont, Wilson, 1996) и данные по снижению эффекта одновременного действия 20E и ЭБЛ на развитие насекомых, то есть антиэкдистероидное действие БР (Ахрем, Ковганко, 1989).

Действие 20E на ЗС увеличило длину гипокотилей арабидопсиса (как и БЛ, ГБЛ) и уменьшило площадь семядолей у Col, по сравнению с действием ЗС без гормона. 20E регулировал ростовые процессы, отличные от БР, так как 20E, в отличие от экзогенных ГБЛ и БЛ, не мог полностью заменить недостаток БР у *det2*, ускоряя растяжение гипокотилей, сильно ингибировал растяжение семядолей. Взаимодействие 20E и ЗС носило антагонистический характер в регуляции проростков арабидопсиса. 20E усиливал растяжение семядолей *det2* в темноте и уменьшал на ЗС, в то время как длину гипокотилей у Col (как и БЛ, ГБЛ) увеличивал на ЗС эффективнее, чем в темноте.

Влияние 20E на некоторые ростовые и метаболические процессы аналогично влиянию ЭБЛ и ГК<sub>3</sub>, что позволило предположить в качестве одного из механизмов его действия взаимодействие 20E с рецепторами ЭБЛ и ГК<sub>3</sub>. В этом случае, различия регулируемых 20E процессов связаны или с типом рецепторов, активируемых 20E, или системой трансдукции сигнала. По аналогии с БР, 20E мог взаимодействовать с рецепторами БР, и регулировать процессы, затрагивая генетические и негенетические механизмы (Champlin, Truman, 2000; Hock et al., 2000; ThummeI, Chory, 2002; Wang, He, 2004). В том числе 20E мог влиять и на содержание ИУК и белка, а также непосредственно участвовать в метаболизме стероидов. Полученные данные позволяют рассматривать 20E как эндогенное физиологически активное соединение растений.

### ***Роль жасмоновой кислоты в регуляции морфогенеза растений Arabidopsis thaliana на зеленом свету***

Жасмонаты – циклопентановые соединения, регулирующие рост и развитие растений, а также участвующие в ответах растений на стрессовые факторы внешней среды (Berger, 2002). К наиболее физиологически активным жасмонатам относят цис-жасмоновую кислоту (ЖК) и ее метиловый эфир (МеЖК) (Sembdner, Parthier, 1993).

Предварительные исследования влияния ЖК на морфогенез этиолированных проростков *A. thaliana* показали зависимость эффекта от их генотипа. ЖК удлинит гипокотили у Col, *Ler*, *hy4* и *hy1* ( $10^{-7}$  М) и *det2* ( $10^{-8}$  М) и уменьшила площадь их семядолей. Действие высоких концентраций ЖК тормозило растяжение гипокотилей у *Ler* ( $10^{-6}$  и  $10^{-5}$ М) и у *hy4* ( $10^{-5}$ М), а у *hy1* ингибирование не было отмечено. Меньшую чувствительность к ЖК у семядолей Col (рис. 9б), по сравнению с *Ler*, можно объяснить снижением уровня транскриптов *CYP74B2*, кодирующих ферменты синтеза жасмонатов (Duan et al., 2005). Подобный ростовой эффект экзогенной ЖК мог быть связан и с неоднозначным влиянием на биосинтез эндогенной ЖК, в результате индукции транскрипции генов, регулирующих ее синтез (Heitz et al., 1997; Laudert, Weiler 1998; Mussig et al., 2000; Seo et al., 2001; Sasaki et al., 2001).

В условиях высокой концентрации питательной среды снижался стимулирующий эффект действия ЖК на рост *hy4*. Возможно, что это связано с повышением эндогенного уровня ЖК или ее производных, которые синтезируются во время водного стресса (Creelman, Mullet, 1997).

Таким образом, эффект ЖК на скотоморфогенез арабидопсиса зависел от концентрации гормона, концентрации питательного раствора и генотипа арабидопсиса. Нарушение работы фоторецепторов (*cry1* и *phy*) изменило чувствительность к ЖК.

***Влияние ЖК на морфогенез проростков A. thaliana при кратковременной деэтиоляции на СС и ЗС.*** Сигнальная система ЖК индуцируется рядом абиотических факторов: осмотическим, поранением, засухой и другими, но взаимодействие этого гормона со светом мало исследовано. Есть данные, что ЖК вовлечена в ингибирование роста coleoptилей риса, контролируемое не только фитохромами, но и криптохромами (Naga, Iino, 2004; Hirose et al., 2006).

*JAR1* является одним из 19-ти тесно связанных генов *Arabidopsis*, индуци-

руемых ауксином и участвующих в реализации многих важных сигналов (Staswick, Tiryaki, Rowe, 2002; Kazan, Manners, 2008). Мутант *jar1-1*, тестируемый по росту корней в присутствии ЖК, относят к ЖК-нечувствительным мутантам. Согласно нашим данным, реакция *jar1-1* на действие ЖК в темноте выразалась в задержке роста гипокотыля, аналогичной реакции проростков дикого типа Col (рис. 9), и свидетельствовала об определенной чувствительности к ЖК. Из этого следовало, что нарушение функционирования фермента, модифицирующего ЖК у мутанта *jar1-1* (Staswick, Su, Howel, 1992), вероятно, не затрагивало модификацию сигнальной трансдукции ЖК (Карначук, др., Головацкая, 2008).

Изучение взаимодействия сигналов СС и ЖК в регуляции морфогенеза *Arabidopsis* показало, что при совместном действии факторов происходило сложение их эффектов в ингибировании роста гипокотилей *Ler*, *Col* и *jar1-1* (рис. 9а). У *hy4* подобный контроль был утрачен и стимулировался рост.

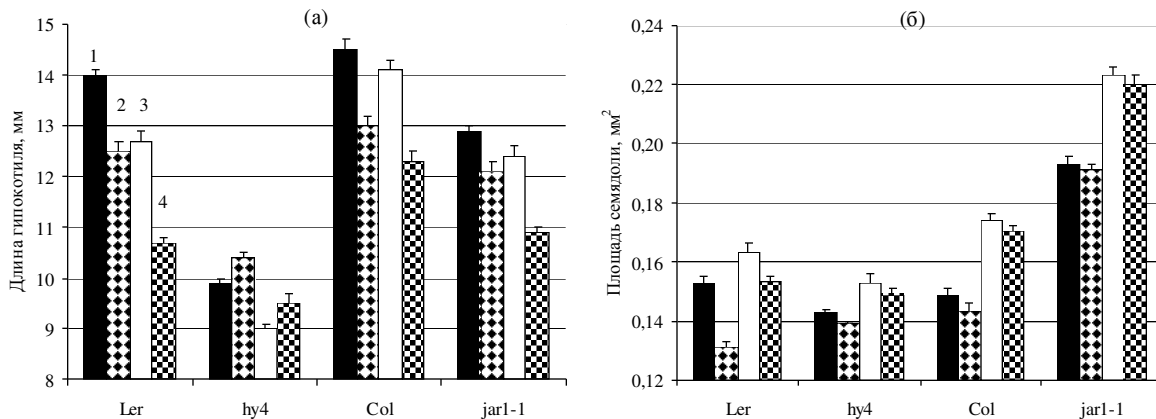


Рисунок 9 – Влияние экзогенной жасмоновой кислоты (ЖК) на рост гипокотилей (а) и семядолей (б) 7-дневных проростков арабидопсиса экотипов Landsberg *erecta* и Columbia в темноте (Т) и при деэтиляции на синем свете (СС, 439 нм, 3 мкМ квантов/м²с, 30 мин.): 1 – Т, 2 – Т + 10<sup>-6</sup>М ЖК, 3 – Т + СС, 4 – Т + СС + 10<sup>-6</sup>М ЖК

Ростовые ответы находились в зависимости от уровня отдельных фитогормонов и их баланса. Так, задержка роста гипокотилей и семядолей *Ler* в присутствии ЖК была сопряжена со снижением уровня свободной формы ИУК и значительным увеличением содержания свободной формы АБК не только в темноте, но и на СС. У *hy4* в темноте с ЖК удлинение гипокотыля сопровождалось падением уровня свободной формы АБК в 3 раза.

Согласно нашим данным, взаимодействие сигналов ЖК и СС проявлялось в регуляции уровня АБК, а именно, отмечен положительный синергический эффект двух факторов на содержание свободной АБК у проростков дикого типа. По данным других авторов, накопление АБК происходило одновременно с увеличением уровня эндогенной ЖК в растениях (Benedetti et al., 1995; Wang et al., 2002). Подобно АБК, МеЖК вызывает продукцию реактивных разновидностей кислорода ROS и NO, активизирует каналы I<sub>Ca</sub> и анионные каналы S-типа, способствует закрыванию устьиц (Munemasa et al., 2007).

Стало очевидно, что существует множество точек взаимодействий между различными путями передачи сигнала. Жасмонат и АБК могут использовать

сходный механизм передачи сигнала, т.е. действовать через общий сигнальный посредник, который воздействует на реакцию других гормонов растений. Полученные нами данные по совместному действию ЖК и СС на рост гипокотыля позволяют предполагать, что СС включает сигнальные системы с общими для фитогормона посредниками, прежде всего, на уровне контроля содержания ИУК и АБК. И только у *hy4* с нарушенным восприятием СС подобной реакции не наблюдается.

Эффект  $10^{-6}$ М ЖК, связанный с торможением роста гипокотилей в темноте и на СС, сохранялся и при деэтиоляции на ЗС. Совместное влияние двух факторов (экзогенного гормона и света –  $10^{-6}$ М ЖК + ЗС) приводило к суммированию их эффектов. Увеличение концентрации ЖК до  $10^{-5}$ М ЖК обуславливало ингибирование роста как гипокотилей, так и семядолей у *Ler* и *hy4*, усиливая действие ЗС на гипокотили и уменьшая его на семядоли (рис. 10). Присутствие *cry1* у *Ler* снижало ингибирующее действие  $10^{-5}$ М ЖК на ЗС на рост гипокотилей по сравнению с *hy4*, что позволило предполагать участие высоких концентраций ЖК в трансдукции сигнала ЗС через фоторецептор *cry1*.

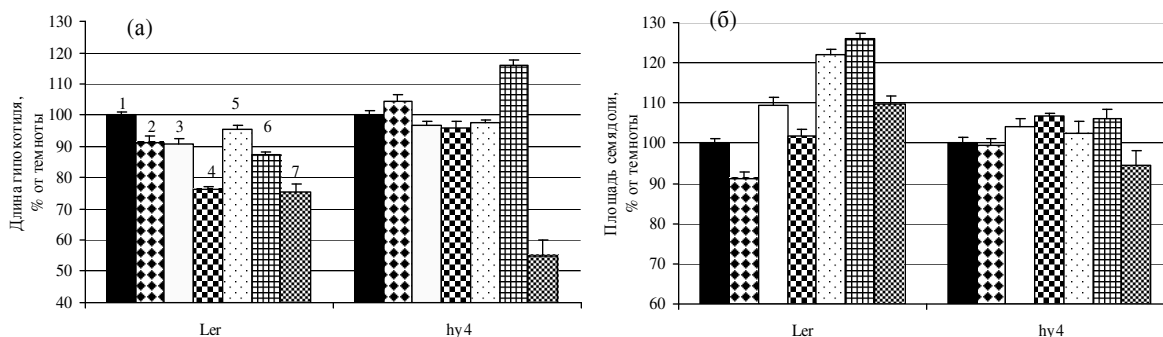


Рисунок 10 – Влияние экзогенной жасмоновой кислоты (ЖК) на рост 7-дневных проростков арабидопсиса в темноте (Т) и при деэтиоляции на синем (СС) и зеленом (ЗС) свету: 1 – Т, 2 – Т +  $10^{-6}$ М ЖК, 3 – Т + СС (439 нм), 4 – Т + СС +  $10^{-6}$ М ЖК, 5 – Т + ЗС (524.5 нм), 6 – Т + ЗС +  $10^{-6}$ М ЖК, 7 – Т + ЗС +  $10^{-5}$ М ЖК

Таким образом, ЖК, как и кратковременный СС и ЗС, регулирует ранние этапы морфогенеза *A. thaliana* через сигнальные системы. Весьма вероятно, что эта регуляция сопряжена с изменением баланса эндогенных гормонов. Действие ЖК на уровень АБК и зеатина (*Ler*) имело одинаковое направление с действием света. Мутация гена *HY4* изменила баланс свободной и связанных форм АБК и снизила уровень зеатина в ответ на действие ЖК и света. Показана интеграция сигнальных систем, включаемых светом и ЖК, в морфогенезе *A. thaliana*.

**Влияние ЖК на морфогенез проростков *A. thaliana* при длительном действии ЗС и СС.** Согласно нашим данным, с увеличением концентрации ЖК от  $10^{-7}$  до  $10^{-5}$  М повышался ингибирующий эффект гормона на рост корней *Ler*, *hy4* и *hy1*. Торможение роста ЖК можно объяснить либо индукцией гормоном активности пероксидазы, участвующей в биосинтезе лигнина и изменяющей эластичность клеточной стенки (Parthier, 1991), либо образованием этилена (Fan et al., 1997).  $10^{-7}$ М ЖК удлиняла гипокотили у *hy4*, но укорачивала у *hy1*. Действие экзогенной ЖК совпадало с направлением действия ЗС на размеры осево-

го органа у *hy1* и семядолей у проростков *hy4*, возможно, компенсируя недостаток фоторецепторов. Увеличение концентрации экзогенного гормона до  $10^{-5}$ М ингибировало растяжение площади семядолей *Ler* и *hy1*.

Действие ЖК на фотоморфогенез проростков зависело от качества света (рис. 11), что может служить дополнительным доказательством взаимодействия на уровне трансдукции светового и гормонального сигнала. У дикого типа под влиянием  $10^{-6}$ М ЖК на ЗС ингибировалось растяжение гипокотилей, семядолей и корней, тогда как на СС достоверно удлинялся только корень. Проростки мутанта *hy4*, в которых функционировали другие фоторецепторы, отличные от *cry1*, в условиях средневолнового участка спектра ФАР реагировали на действие ЖК увеличением длины гипокотилия, тогда как в условиях коротковолновой радиации происходило ингибирование растяжения всех частей проростка.

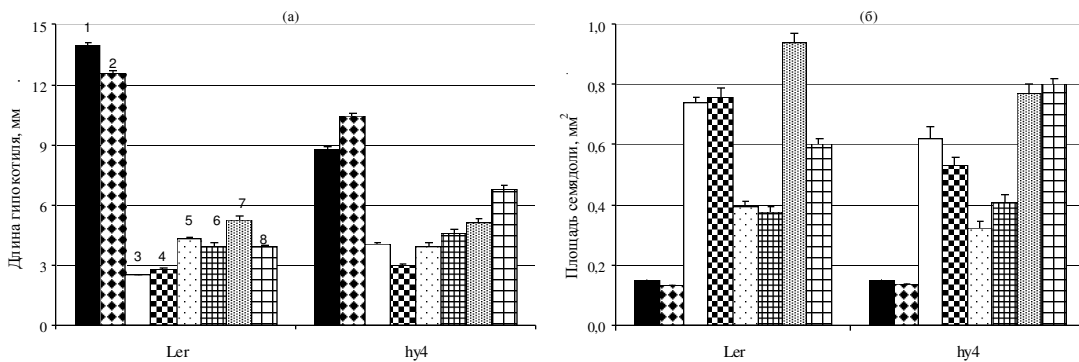


Рисунок 11 – Зависимость роста гипокотилей (а) и семядолей (б) 7-дневных проростков арабидопсиса от действия жасмоновой кислоты ( $10^{-6}$ М ЖК) при адаптации к синему (СС) и зеленому (ЗС) свету: 1 – темнота (Т), 2 – Т + ЖК, 3 – СС (48 мкМ квантов/м<sup>2</sup>с), 4 – СС + ЖК, 5 – ЗС<sub>1</sub> (48 мкМ квантов/м<sup>2</sup>с), 6 – ЗС<sub>1</sub> + ЖК, 7 – ЗС<sub>2</sub> (96 мкМ квантов/м<sup>2</sup>с), 8 – ЗС<sub>2</sub> + ЖК.

**Влияние ЖК на содержание фотосинтетических пигментов в арабидопсисе.** В темноте  $10^{-6}$ М ЖК не влияла на уровень *Кар* в семядолях обеих линий *Arabidopsis*, тогда как на свету эффект экзогенного гормона на пигменты во многом зависел от интенсивности света (табл. 7). При более низкой интенсив-

Таблица 7 – Зависимость содержания фотосинтетических пигментов в семядолях 7-дневных проростков арабидопсиса экотипа Landsberg *erecta* от действия экзогенной жасмоновой кислоты ( $10^{-6}$ М ЖК) на зеленом свету (ЗС<sub>1</sub> – 48 мкМ квантов/м<sup>2</sup>с, ЗС<sub>2</sub> – 96 мкМ квантов/м<sup>2</sup>с, 16 ч)

Линия	Условия выращивания	Содержание пигментов, мг /семядоля × 10 <sup>-2</sup>		
		<i>Хла</i>	<i>Хlb</i>	Каротиноиды
<i>Ler</i>	Темнота	–	–	0.2±0.09
	Темнота + ЖК	–	–	0.3±0.02
	ЗС <sub>1</sub>	3.8±0.05	0.8±0.02	2.6±0.05
	ЗС <sub>1</sub> + ЖК	2.1±0.01	0.6±0.02	1.3±0.06
	ЗС <sub>2</sub>	6.6±0.05	2.1±0.04	3.1±0.07
	ЗС <sub>2</sub> + ЖК	5.6±0.20	1.5±0.23	2.4±0.09
	<i>hy4</i>	Темнота	–	–
Темнота + ЖК		–	–	0.3±0.01
ЗС <sub>1</sub>		1.7±0.04	0.3±0.09	1.2±0.07
ЗС <sub>1</sub> + ЖК		1.1±0.01	0.3±0.05	0.7±0.05
ЗС <sub>2</sub>		5.2±0.39	1.5±0.14	2.9±0.14
ЗС <sub>2</sub> + ЖК		6.9±0.20	1.3±0.15	3.5±0.13



ности ЗС<sub>1</sub> негативное действие ЖК на уровень зеленых и желтых пигментов у *Ler* было выше, чем при высокой ЗС<sub>2</sub> (Головацкая, Карначук, 2008).

В качестве возможных механизмов негативного действия ЖК можно назвать индукцию гена *AtCLH1* хлорофиллазы, усиливающей разрушение *Хл* у растений *A. thaliana* (Tsuchiya et al., 1999), разрушение хлоропластных белков (Weidhase et al., 1987; Parthier, 1990; Kumari, Sudhakar, 2003), снижение уровня *Кар* (Betz et al., 1995). ЖК вызывает окислительный стресс, сопровождающийся перекисным окислением липидов, увеличением повреждения мембран и утечкой электролитов (May, Leaver, 1993; Zhang, Kirkham, 1996; Wang, 1999; Feild, Lee, Holbrook, 2001; Kumari, Sudhakar, 2003).

Негативное действие ЖК на уровень фотосинтетических пигментов у *hy4* было менее значительным, чем у дикого типа, и при большей интенсивности ЗС не проявлялось. Вероятно, в отсутствие фоторецептора *cry1* менялась регуляция высокоэнергетических реакций в растении, с помощью которых ЗС более высокой интенсивности включал антиоксидантные процессы, регулируемые другими фоторецепторами ЗС. Возможными фотопротекторами, относительное содержание которых увеличивается под действием МеЖК, являются *Кар анте-раксантин* и *зеаксантин* (Betz et al., 1995).

Таким образом, ингибирующее действие 10<sup>-6</sup>М ЖК в темноте на растяжение гипокотилей *Ler Arabidopsis* было аналогично действию ЗС и СС. При совместном действии факторов эффекты света (ЗС или СС) и ЖК суммировались. Сигнал ЖК не транслировался в системе с дефицитом *cry1*. Следовательно, сигнальные пути ЖК и света связаны между собой через компоненты, активируемые *cry1*. Нарушение трансдукции ЗС у *hy4* или увеличение облученности проростков ЗС уменьшало негативное действие экзогенного гормона на уровень пигментов фотосинтеза.

### **К ВОПРОСУ О ФОТОРЕЦЕПТОРЕ ЗЕЛЕНОГО СВЕТА**

Известны рецепторы КС и СС/УФ-А (Quail, 1991; Clack et al, 1994; Lin et al, 1995; Whitlam, Devlin, 1998; Cashmore et al., 1999; Imaizumi et al., 2000; Briggs, Olney, 2001; Liscum, Hodgson, Campbell, 2003). Идет поиск рецепторов ЗС (Matile, 1962; Klein, Edsall, 1967; Mohr, 1970; Карначук, 1972, 1978; Azpiroz, 1979; Koornneef, Rolff, Spruit, 1980; Tanada, 1984; Steinitz, Ren, Poff, 1985; Карначук, Головацкая, Новикова, 1985; Kaufman, 1993; Ahmad, Cashmore, 1993; Okada, Shimura, 1994; Mimuro et al., 1995; Talbott et al., 2003), однако до сих пор отсутствует единое мнение относительно регуляторных пигментов ЗС.

При изучении регуляторных пигментов ЗС оценили вклад известных фоторецепторов (фитохромов и криптохромов) в восприятие ЗС растением (Головацкая, 1998; Головацкая, Ефимова, 2003; Головацкая, 2005; Головацкая и др., 2007). Участие фитохромов в регуляции процессов жизнедеятельности растений определяли по ЗС/ДКС-эффекту, последовательно освещая растения ЗС и ДКС. Изучали рост мутантных растений по фоторецепторам (*cry1*, *phyA-E*) и динамику уровня фитогормонов на ЗС, СС, КС и ДКС.

*Роль фитохромов и криптохрома1 в ростовых реакциях проростков арабидопсиса на ЗС.* Действие ДКС зависело от его продолжительности и паузы пе-

ред следованием ДКС (рис. 12а). Для "отмены" действия КС на рост семядолей требовалось меньшее время действия ДКС, чем для гипокотилей (Головацкая и др., 2007). Органоспецифичность спектров действия света можно объяснить существованием различных форм агрегированного фитохрома (Ф), поддерживаемого пулом цитоплазматического кальция при освещении селективным светом (Yamamoto et al., 1980; Roux et al., 1986; Ninkovic, Obrenovic, 2000), и разной начальной кинетикой вызываемых ими реакций. Световые реакции фитохромов на повторное освещение связывают с темновой реверсией, характерной гетеродимерам фитохрома ФкФдк, тогда как гомодимеры ФдкФдк нестабильны (Schmidt, Schafer, 1974; Hennig, Schafer, 2001). Следует иметь в виду и разные свойства отдельных фитохромов, контролирующих разные по энергии реакции, а также существование промежуточного конформера phyA в цикле превращения Фк через Фдк (Фк<sup>+</sup> phyA) с коротким периодом полураспада (Hennig et al., 1999; Hennig, Biiche, Schafer, 2000; Shinomura, Uchida, Furuya, 2000). phyB обеспечивает классически фотообратимую реакцию (Shinomura et al., 1996), отвечая на действие низкой интенсивности КС и ДКС. Действие phyA – фотонеобратимо, оно вызывает реакции при очень низкой интенсивности освещения УФ-А и видимой области и высокой интенсивности ДКС (Botto et al., 1996).

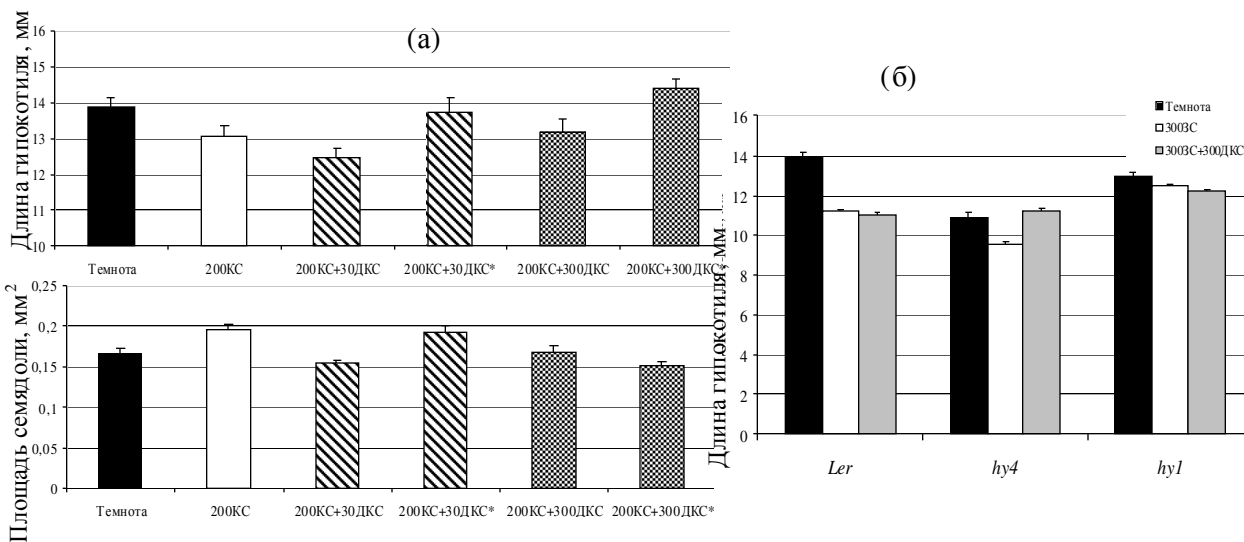


Рисунок 12 – Влияние красного (КС – а) и зеленого (ЗС – б) света на ростовые параметры 7-дневных проростков *Ler* арабидопсиса. Цифрами при буквах на оси X обозначена продолжительность освещения (имп.). \* – ДКС через 10 мин. после КС

По нашему мнению, решающую роль в направлении световых реакций могут играть вторичные посредники трансдукции сигнала ЗС, поглощаемого разными фоторецепторами (Головацкая и др., 2007). На рис. 12б показано, что действие ЗС на рост арабидопсиса во многом зависело от состава функционирующих фоторецепторов. Наибольшее ингибирование роста гипокотилей на ЗС (542 нм, 300 имп.) отмечено у проростков *Ler*, имеющих полный набор фоторецепторов. Отсутствие одного из фоторецепторов СС (*cry1*) или КС (*phyA-E*) снижало чувствительность к ЗС проростков *hy4* или *hy1* по сравнению с исходной линией *Ler*. При этом отсутствие всех видов фитохромов у *hy1* снижало чувстви-

тельность к ЗС более существенно, чем отсутствие *cry1* у *hy4*.

ДКС (300 имп.), действующий после ЗС (300 имп.), не оказывал существенного влияния на ростовые реакции гипокотилей *Ler* (рис. 12б), что аналогично реакциям на 200КС+300ДКС (рис. 12а). Подобный ответ можно связать с реакциями, опосредованными поглощением ЗС высокой интенсивности фоторецепторами *cry1* и *phyA* и не предусматривающими обращение. На способность *cry1* и *phyA* регулировать высокоэнергетические реакции указывают и другие авторы (Fuguoa, Schafer, 1996). Участие нескольких фоторецепторов в поглощении одного участка ФАР позволяет предполагать пересечение путей трансдукции сигнала света, то есть существование *сети трансдукции светового сигнала*. Исходя из этого, следует, что при проявлении эффекта 300ЗС+300ДКС у проростков *Ler* наиболее выражены результаты взаимодействия путей передачи сигналов ЗС и ДКС. Известно, что *phyA* частично подавляет действие *cry1* при регуляции СС роста гипокотилей (Hennig et al., 1999). Аналогичное взаимодействие, возможно, проявляется при действии ЗС и ДКС, при этом ЗС активирует и *cry1* и фитохромы, а ДКС инактивирует *phyB* и активирует *phyA*. Согласованность действия фоторецепторов лежит в конечном числе мессенджеров и, следовательно, направлении физиологического ответа.

Отсутствие эффекта ЗС/ДКС-обращения у проростков *hy1* было связано с отсутствием фитохромов, участвующих в световых превращениях (рис. 12б). При повреждении *cry1* ростовые реакции *hy4* в ответ на действие ЗС были обратимы ДКС. Этот факт позволил предполагать у *hy4* снятие контроля со стороны *cry1* трансдукции светового сигнала, запускаемой фитохромами.

*Спектральное зондирование роста проростков* при однократной деэтиоляции на ЗС (515, 532 и 542 нм) высокой энергии позволило выявить повышение эффективности функционирования *cry1* (белая плоскость фигур) в гипокотиле с увеличением интенсивности (от 30 до 300 имп.) ЗС<sub>515</sub> и в меньшей степени ЗС<sub>542</sub> (рис. 13). В семядоле используется не только *cry1*, но также другой фоторецептор (серая плоскость фигур), поглощающий в области 532 и 542 нм высокой интенсивности (Головацкая, 2005).

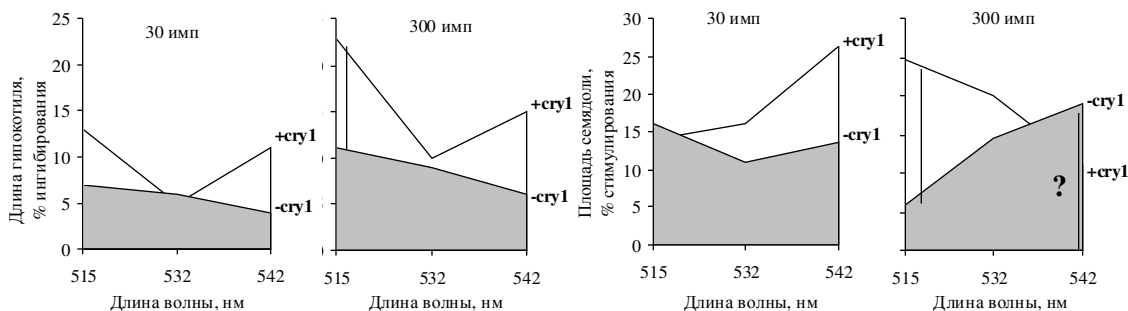


Рисунок 13 – Влияние расфокусированного импульсного лазерного излучения зеленой области ФАР на рост гипокотилей и семядолей 7-дневных проростков исходной линии *Ler* (+*cry1*) и мутанта *hy4* (-*cry1*) арабидопсиса

Функционирующие в арабидопсисе криптохромы *cry1* и *cry2* (Jackson, Jenkin, 1995) благодаря хромофорам, метенилтетрагидроfolату и ФАД в флавосемининоновой форме (Lin et al., 1995), поглощают УФ-А, СС и частично определяют чувствительность проростков к ЗС. Меньшая фотостабильность белков *cry2*

при высокой интенсивности УФ-А, СС и ЗС (Ahmad et al., 1998), и их накопление при действии низкой интенсивности света, позволяет предполагать *cry2* в качестве фоторецептора в условиях лимитированного освещения. В хлоропластах и митохондриях открыт фоторецептор *cry3* (Kleine, Lockhart, Batschauer, 2003), поглощающий УФ-А и СС, однако его чувствительность к ЗС не показана.

Отмеченные различия ростовых реакций гипокотилей и семядолей *Ler* и *hy4* на действие ЗС служат доказательством тканеспецифичной активации фоторецепторов, существования отличного от *cry1* фоторецептора ЗС, а также сложного взаимодействия между фоторецепторами, поглощающими ЗС.

Как видно из рисунка 14, с увеличением времени действия ЗС (4.2 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) с 30 до 60 мин. повышался эффект ЗС на рост *Ler* и различия в реакции на ЗС двух линий. При действии широкого спектра ЗС (500 – 600 нм) более высокой интенсивности (48 – 96 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) различия в ростовой реакции семядолей двух линий стирались, свидетельствуя о компенсации недостатка *cry1* через поглощение ЗС другими фоторецепторами. Однако ЗС увеличивал различия размеров гипокотилей у *hy4* и *Ler*, что показывало большую зависимость их роста от деятельности *cry1*, чем семядолей. Для проявления фотоморфогенетической реакции на СС (30 мин) у *Ler* требовалась интенсивность света выше 5 мкМ квант/м<sup>2</sup>с. Недостаток *cry1* обуславливал более низкий ростовой ответ всех элементов проростков мутанта на СС по сравнению с проростками дикого типа.

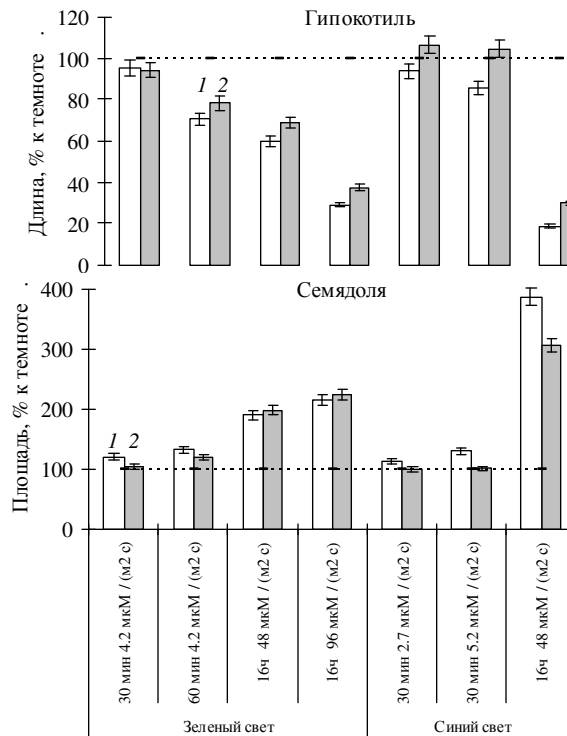


Рисунок 14 – Изменение ростовых параметров 7-дневных проростков *Ler* (1) и *hy4* (2) арабидопсиса на СС и ЗС (интерференционные светофильтры, макс. 439 и 543 нм; люминесцентные лампы ЛС-40 и ЛЗ-40).

### Роль фитохромов и криптохрома 1 в формировании гормонального статуса

растений на ЗС. На определенном этапе трансдукции светового сигнала в качестве вторичных посредников предполагают фитогормоны. Известно, что каскады передачи сигналов ЦК и БР (Neff et al., 1999; Sweere et al., 2001; Зубо и др., 2005; Symons et al., 2008) изменяют передачу сигналов фитохрома на генном и цитоплазматическом уровнях. Установлено также, что свет воздействует на передачу гормональных сигналов, регулируя экспрессию/активность ключевых элементов, участвующих в биосинтезе гормонов (Kang et al., 2001). Зависимые от фитохрома изменения активности ГК показаны в основном на КС, тогда как спектр действия фитохрома распространяется на всю область ФАР (Mohr, 1970). Следует предположить, что фитохромзависимая активация ГК и других гормонов происходит и на ЗС.

Согласно нашим данным, кратковременная деэтиоляция первичного листа фасоли на ЗС (553 нм, 1 мин) существенно снизила активность свободных форм  $ГК_{1+3}$  в отличие от КС (670 нм) и СС (436 нм), но повысила уровень свободной формы  $ГК_9$  (рис. 15б), увеличивающийся и у листа овса (табл. 2).

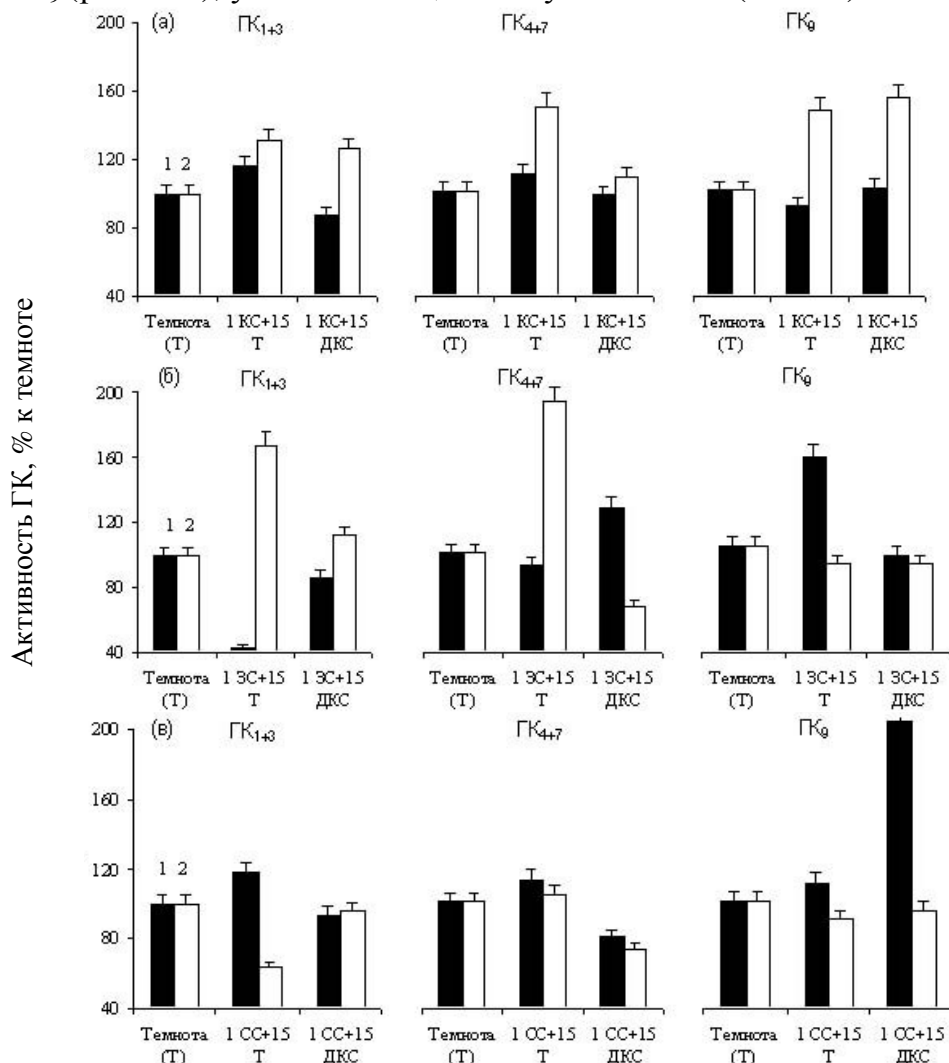


Рисунок 15 – Влияние селективного света на активность свободных (1) и связанных (2) форм ГК в первичном листе 10-дневных проростков фасоли: а – КС и ДКС, б – ЗС и ДКС, в – СС и ДКС. Т – темнота. Цифрами на оси X обозначена продолжительность освещения (мин). Биотест: стимуляция амилазной активности

Учитывая, что биологический эффект ГК<sub>9</sub> обусловлен его метаболизмом до активного гиббереллина ГК<sub>4</sub>, а ГК<sub>20</sub> до ГК<sub>1</sub> за счет фермента ГК-3β-гидроксилазы (GA4) (Hedden, Kamiya, 1997, 2000; Yamaguchi et al., 1998), можно предположить снижение активности этого фермента на ЗС. Основываясь на факте увеличения уровня мРНК GA4 фитохромом (Kamiya, Garcia-Martinez, 1999; Yamaguchi, Kamiya, 2000), объяснение наших данных связано с возможностью участия другого фоторецептора ЗС.

В результате исследования фитохромных эффектов на СС и ЗС отметили, что ДКС обращал действие ЗС на активность ГК<sub>1+3</sub>, ГК<sub>4+7</sub> и ГК<sub>9</sub> (рис. 15б) и действие СС на ГК<sub>1+3</sub> (рис. 15в).

Снижение свободных форм АБК после действия света разного спектрального состава обращалось действием ДКС (рис. 16а). Однако, если действие КС полностью снималось ДКС, то действие ЗС – только наполовину. Содержание свободной АБК на ДКС после СС превышало темновой контроль в два раза. Наблюдаемое обращение эффектов СС, ЗС и КС дальним красным светом говорит об участии фитохрома в регуляции содержания ингибитора роста. Различия в содержании АБК на селективном свете могут быть обусловлены взаимодействием других фоторецепторов, в том числе и рецепторов ЗС, с фитохромом.

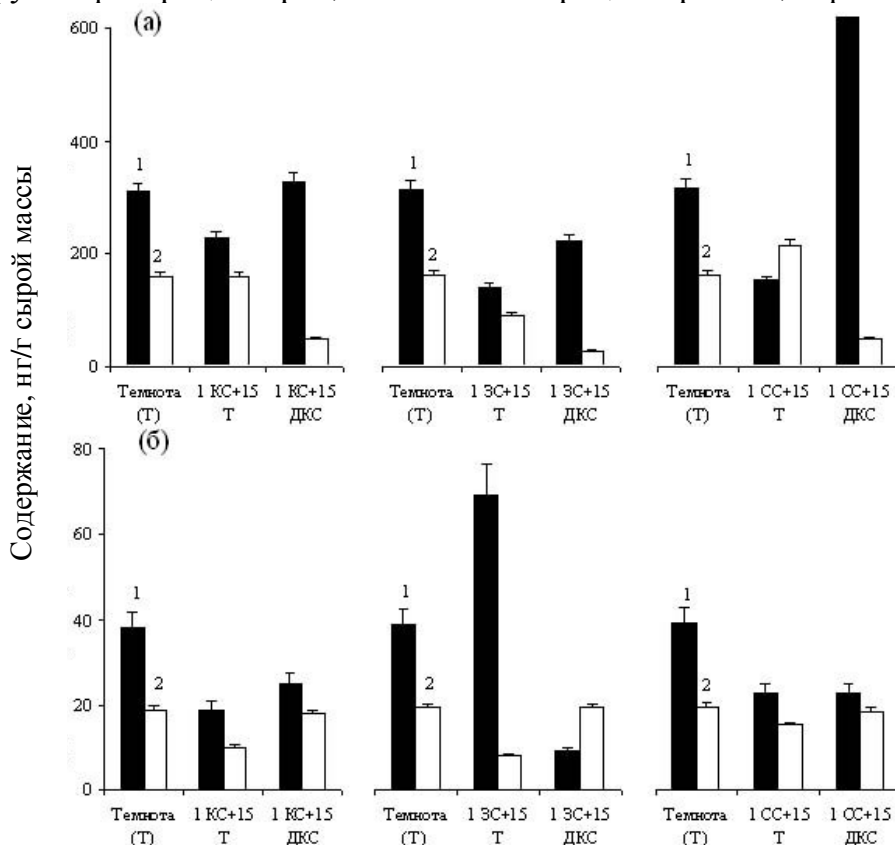


Рисунок 16 – Влияние селективного света на содержание свободных (1) и связанных (2) форм АБК (а) и ИУК (б) в первичном листе 10-дневных проростков фасоли. Иммуноферментный анализ. Обозначения, как на рис. 15.

ДКС обращал эффекты КС и ЗС на уровень ИУК (рис. 16б), подтверждая участие фитохромов на обоих участках спектра ФАР. Однако, эффекты 1 мин

ЗС + 15 мин ДКС и 1 мин СС + 15 мин ДКС на содержание ИУК свидетельствовали о сложном взаимодействии фоторецепторов ЗС и КС, СС и КС.

Сопоставляя гормональный баланс первичного листа *P. vulgaris* на ДКС после ЗС с таковым после КС и СС (рис. 15 и 16), показали неполную идентичность фитохромной регуляции уровня гормонов и совместного действия рецепторов КС и СС. Усиление вызванного ДКС обращения эффектов как СС, так и ЗС, на уровень ГК<sub>4+7</sub>, вероятно, объяснялось включением фоторецепторов СС в фитохромную регуляцию на обоих участках спектра ФАР. Однако, неполное обращение действия ЗС на содержание АБК, вызванное ДКС, в отличие от усиливающего эффекта СС, позволило предполагать функционирование фоторецепторов, отличных от фитохромов и криптохромов.

Другие авторы также обсуждают существование фоторецепторов ЗС, взаимодействующих с фитохромом (Vicente, Garcia, 1981) или как с фитохромом, так и с криптохромом (Tanada, 1984). Высказано мнение о присутствии у растений отдельных систем фоторецепторов для СС/УФ-А (PI) и ЗС (PII) (Konjevic et al., 1989, 1992). Показана регуляторная роль ЗС в фототропизме, который, как правило, регулируется СС и УФ-А (Steinitz et al., 1985). Некоторые авторы считают, что дефектный фоторецептор *nph1* (или PHOT1) у мутантов *nph1* является фоторецептором как СС, так и ЗС (Liscum, Briggs, 1995).

Эффективность действия ЗС<sub>524.5</sub> (3 мкМ квант/м<sup>2</sup>с) на морфогенез семядолей в 2 и гипокотилей в 4 раза меньше, чем действие СС<sub>439</sub>. Согласно спектру поглощения *сгу* чувствительность в области 525 нм в 3.3 раза ниже, чем таковая в области 439 нм, что позволяет предполагать в семядоле работу дополнительного фоторецептора ЗС, взаимодействующего с *сгу1*. Этим фоторецептором может быть и *сгу2*, функционирующий при более низкой интенсивности света (0.6–5.5 мкМ квант/м<sup>2</sup>с). Вероятность участия фоторецептора PHOT2 в поглощении ЗС низкой интенсивности маловероятно, так как различие в поглощении этих длин волн составило 6.6 раз.

Таким образом, наши и литературные данные позволяют предполагать одновременное с *сгу1* и фитохромами функционирование других фоторецепторов ЗС, в том числе *сгу2*, и рецепторов, поглощающих излучение с длиной волны 515 и 542 нм высокой интенсивности и 543–553 нм низкой интенсивности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЗС регулирует морфогенез растений и определенные уровни организации и активности фотосинтетического аппарата. Межвидовые различия реакций на действие ЗС связаны с генетическими программами, обуславливающими продолжительность жизненного цикла, скорости роста и развития растений. Мутации генов *DET2*, *GA4*, *HY4*, *PHYA-E*, контролирующих биосинтез фитогормонов и фоторецепторов, снижают реакции в ответ на действие ЗС, что позволяет предполагать продукты этих генов в качестве компонентов механизма трансдукции сигнала ЗС. В трансдукции сигнала ЗС участвуют и эндогенные фитогормоны (ГК, БР, ЦК, ИУК, АБК).

На основе анализа экспериментальных данных мы выявили функционирование в растении систем фоторегуляции морфогенеза, зависящих от зеленого света и контролируемых соотношением ростовых реакций. Важным компо-

нением этих систем выступает гормональный комплекс, активируемый светом через фитохромы А-Е, криптохром 1 и другие регуляторные пигменты ЗС.

Проведенные исследования в совокупности с имеющимися в литературе сведениями позволили обобщить в единой схеме возможные пути рецепции и трансляции сигнала ЗС в растении (рис. 17).

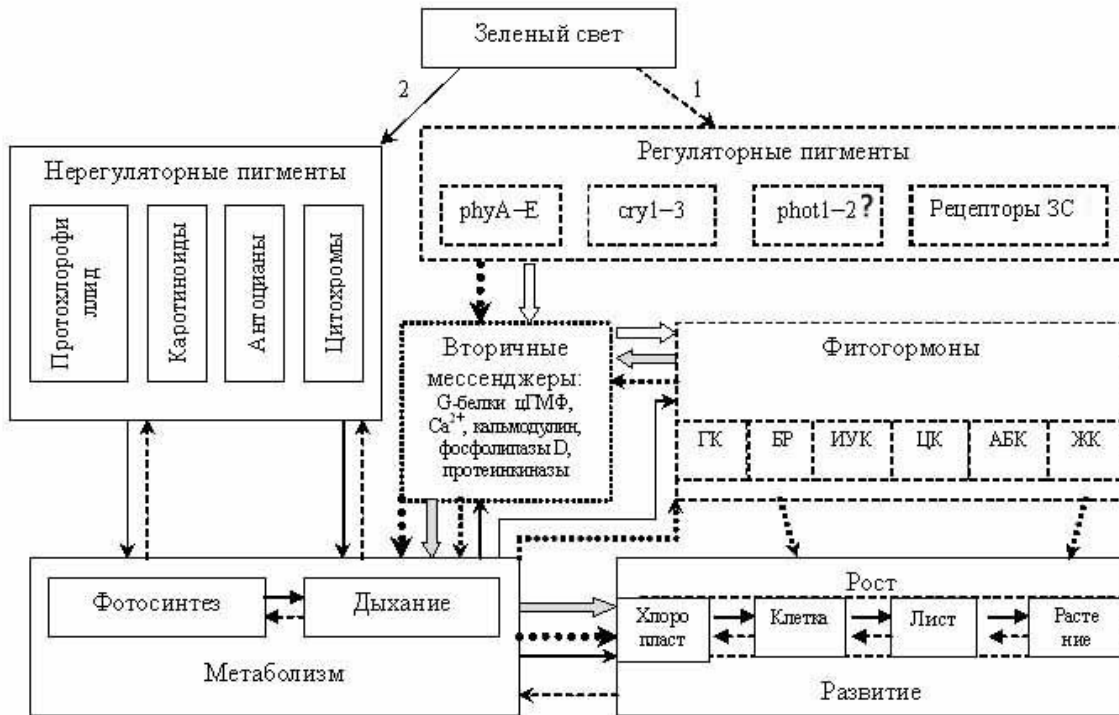


Рисунок 17 – Общая схема, показывающая рецепцию и трансляцию сигнала зеленого света (сплошная линия – энергетическая роль света, пунктирная линия – регуляторная роль света в растении, плоскостная стрелка – включение фитогормонов в передачу сигнала света)

ЗС действует на процессы в растении через регуляторные (фитохромы А–Е, криптохром 1, фототропин (?), специфические рецепторы ЗС – пунктирная линия) и массовые (протохлорофиллид, каротиноиды, антоцианы, цитохромы – сплошная линия) пигменты.

Регуляторные пигменты (1) на ЗС включают каскады вторичных мессенджеров, с помощью которых контролируют жизнедеятельность растений. Массовые пигменты (2) осуществляют энергетическое действие ЗС на метаболические процессы. Рост и развитие структур разного уровня (субклеточный, клеточный, органный, организменный), определяя донорно-акцепторные отношения, изменяют метаболизм.

Регуляторная функция ЗС реализуется с опережением относительно энергетической функции ЗС, так как сигнал ЗС через phyA–Е, cry1 и другие рецепторы ЗС, поглощающие 515, 525, 535, 543 и 553 нм, активирует сеть вторичных посредников и гормональную систему регуляции, включая программу фотоморфогенеза растений, сопряженную с формированием фотосинтетического аппарата. Способность поглощать ЗС позволяет растениям полнее оценить световые условия и адекватно реагировать на их изменения. Не случайно механизм



движения устьиц контролируется соотношением ЗС/СС (Talbot, 2004). Согласно нашим данным ЗС особенно важен на ранних этапах онтогенеза, когда правильная оценка световых условий позволяет включить адекватную программу развития.

## ВЫВОДЫ

1. Зеленый свет выполняет важную регуляторную функцию в морфогенезе листа, проростков и взрослого растения. Эта функция проявляется в торможении роста, развития и продуктивности по сравнению с действием других участков спектра ФАР. На зеленом свете задерживается рост осевых органов, замедляется формирование семядолей и листьев, уменьшается их удельная поверхностная плотность, число и размеры клеток палисадной паренхимы и увеличивается объем межклетников. ЗС включает специфическую программу фотоморфогенеза растений.

2. Зеленый свет, регулируя формирование фотосинтетического аппарата, уменьшает количество хлоропластов и содержание фотосинтетических пигментов в единице площади листа, тем самым, уменьшая интенсивность фотосинтеза по сравнению с действием синего и красного света.

3. Впервые показано, что регуляторное действие зеленого света на рост листа, проростков и взрослого растения проявляется в изменении баланса эндогенных гормонов (индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот, гиббереллинов, цитокининов) и зависит от таксономической принадлежности растений. Нарушения генов *DET2* и *GA4*, кодирующих ферменты биосинтеза фитогормонов (брассиностероидов и гиббереллинов), обуславливают усиление ингибирующего действия зеленого света на рост и развитие растений.

4. Впервые установлено участие брассиностероидов 24-эпибрассинолида, 28-гомобрассинолида и брассинолида в трансдукции сигнала зеленого света, опосредуя регуляцию баланса эндогенных гормонов индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот, гиббереллинов, цитокининов.

5. Впервые показана гормональная функция экдистерона в растении при поддержании роста растяжением гипокотилия и колеоптиля, активации гидролитических ферментов семян, замедлении старения у листьев. Установлена фоторегуляция уровня экдистерона в растении и его взаимодействие с зеленым светом при регуляции роста проростков.

6. Впервые показана роль жасмоновой кислоты в регуляции морфогенеза растений на зеленом свете. Эта регуляция зависит от уровня жасмоновой кислоты и интенсивности зеленого света.

7. Впервые выявлено участие фитохромов и криптохрома 1 в регуляции морфогенеза растений на зеленом свете, сопряженного с изменением баланса эндогенных гормонов индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот, ГК<sub>1+3</sub>, ГК<sub>4+7</sub>, ГК<sub>9</sub>, цитокининов. Данные позволяют предполагать наличие фоторецептора(ов) зеленого света с максимумами поглощения при длине волны 515 и 543 нм. Функционирование этого фоторецептора(ов) зависит от интенсивности зеленого света. Активация регуляторных пигментов на зеленом свете тканеспецифична.

## Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

### Монографии

1. Головацкая, И.Ф. Иммуноферментный анализ регуляторов роста растений: применение – в физиологии растений и экологии / Коллектив авторов / Под. ред. Р.Н. Чураева. – Уфа: БНЦ УрО АН СССР, 1990. – 164 с.

### Статьи

2. Головацкая, И.Ф. К вопросу об участии антоцианинов в реакциях фотосинтеза / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая, Н.С. Новикова // Оперативные информационные материалы. – Иркутск: Сиб. ин-т физиологии и биохимии растений СО АН СССР, 1985. – С. 40–42.

3. Головацкая, И.Ф. Рост растений и содержание гормонов в зависимости от спектрального состава света / Р.А. Карначук, Н.Н. Протасова, И.Ф. Головацкая // Рост и устойчивость растений / Под. ред. Р.К. Саляева, В.И. Кефели. – Новосибирск: Наука, 1988. – 243 с. (С. 71–81).

4. Головацкая, И.Ф. Гормональная регуляция роста в онтогенезе листа растений на свету / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, П.В. Власов // Вопросы взаимосвязи фотосинтеза и дыхания. – Томск: изд-во Томск. ун-та, 1988. – С. 169–173.

5. Головацкая, И.Ф. Рост и фотосинтез листа серпухи, адаптированной к спектральному составу света / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая, Н.Н. Протасова // там же. – С. 163–168.

6. Головацкая, И.Ф. Гормональный баланс листа растений на свету разного спектрального состава / Р.А. Карначук, В.А. Негрецкий, И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 1990. – Т. 37, вып. 3. – С. 527–534.

7. Головацкая, И.Ф. Регуляторное влияние зелёного света на фотосинтез растений *Lichnis chalconica* / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, М.С. Гинс // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования. Матер. I межд. симп. – Пущино, 1995. – С. 41–43.

8. Головацкая, И.Ф. Морфогенез культуры зародышей пшеницы, эндогенные фитогормоны и роль света / Е.С. Гвоздева, Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая // Теоретические и практические аспекты изучения лекарственных растений / Под ред. Т.Б. Березовской. – Томск: Сибирский гос. мед. ун-т, 1996. – С. 44–46.

9. Головацкая, И.Ф. Регуляторная роль света в процессах фотосинтеза и роста лекарственных растений / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук // там же. – С. 49–51.

10. Головацкая, И.Ф. Фитохромный контроль гормонального комплекса листа фасоли / И.Ф. Головацкая // Матер. II всесоюзн. съезда фотобиологов (8–12 июня 1998 г.) – Пущино-Оке, 1998. – С. 167–169.

11. Головацкая, И.Ф. Зависимость структуры фотосинтетического аппарата растений от спектрального состава света / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая // там же. – С. 275–277.

12. Головацкая, И.Ф. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, вып. 6. – С. 925–934.

13. Головацкая, И.Ф. Роль света в жизни растений / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая // Светокорректирующие пленки для сельского хозяйства: сб. статей. – Томск: Изд-во "Спектр" Института оптики атмосферы, 1998. – С. 24–30.

14. Головацкая, И.Ф. Регуляторная роль света в жизни растений / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая // Физиология и биотехнология растений / Матер. всесоюзн. конф., посвящ. 120-летию ТГУ. – Томск, 1998. – С. 7–10.

15. Головацкая, И.Ф. Действие света на рост и гормональный баланс фасоли при прорастании / И.Ф. Головацкая, Д.А. Семенов // там же. – С. 14–17.

16. Головацкая, И.Ф. О возможной физиологической роли экдистерона в растении / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая // там же. – С. 81–83.

17. Головацкая, И.Ф. Влияние света на рост и баланс гормонов в проростках овса на начальных этапах онтогенеза / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, А.В. Никитина и др. // Физио-

логия и биохимия культурных растений. – 2000. – № 6. – С. 453–461.

18. Головацкая, И.Ф. Влияние зеленого света на рост и гормональный баланс растений / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, С.Ю. Тищенко // Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии: матер. III конф. (3–6 октября 2000 г.). – Уфа: БНЦ УрО АН СССР, 2000. – С. 22–24.

19. Головацкая, И.Ф. Особенности развития органов растений фасоли в условиях освещения и темноты / Л.В. Ивлева, И.Ф. Головацкая, В.П. Леонов // Биометрика:2000 / Матер. Интернет – конференции [http://www.biometrica.tomsk.ru/biom.2000/iv\\_leo.htm](http://www.biometrica.tomsk.ru/biom.2000/iv_leo.htm)

20. Головацкая, И.Ф. Эндогенные гормоны и регуляция морфогенеза *Arabidopsis thaliana* синим светом / Р.А. Карначук, С.Ю. Тищенко, И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 2. – С. 262–267.

21. Головацкая, И.Ф. Рост и гормональный баланс арабидопсиса на зеленом свету / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, М.В. Ефимова // Вестн. Башкир. ун-та. – 2001. – № 2. – С. 114–116.

22. Головацкая, И.Ф. Роль синего света в регуляции роста и гормонального баланса арабидопсиса / Р.А. Карначук, С.Ю. Тищенко, И.Ф. Головацкая // там же. – С. 124–126.

23. Golovatskaya, I. Biological test of adjusting light films / I. Minich, A. Minich, R. Karnachuk, I. Golovatskaya, R. Raida // Proceedings the 5<sup>th</sup> Korea-Russia International Symposium on Science and Technology (june 26–july 3 2001, Tomsk, Russia). – 2001. – Vol. 2. – P. 77–80.

24. Головацкая, И.Ф. Использование светокорректирующих пленок при выращивании рассады капусты / М.А. Большакова, И.Ф. Головацкая // Экология сегодня. – Томск, 2001. – Вып. 1. – С. 10–13.

25. Головацкая, И.Ф. Гормональная регуляция роста лихниса на свету разного спектрального состава / И.Ф. Головацкая // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: матер. IV межд. симп. – Пушкино, 2001. – С. 446–448.

26. Головацкая, И.Ф. Физиолого-биохимические особенности роста и продуктивность растений овощных культур при выращивании под светокорректирующими пленками / И.Ф. Головацкая, В.С. Райда, Р.И. Лещук и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2002. – № 5. – С. 47–51.

27. Головацкая, И.Ф. Действие эпибрассинолида на морфогенез и гормональный баланс проростков арабидопсиса на зеленом свету / Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая, М.В. Ефимова, В.А. Хрипач // Физиология растений. – 2002. – Т. 49, № 4. – С. 591–595.

28. Головацкая, И.Ф. Регуляторная роль зеленого света в морфогенезе растений И.Ф. Головацкая // Актуальные проблемы медицины и биологии / Под ред. Н.Н. Ильинских. – Томск: Сибирский гос. мед. ун-т, 2003а. – Вып. 2. – С. 104–108.

29. Головацкая, И.Ф. Участие CRY1 в регуляции морфогенеза *Arabidopsis thaliana* на зеленом свету / И.Ф. Головацкая // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: матер. 5 межд. симп. (9–14 июня 2003 г., Пушкино-на-Оке). – М., 2003б. – Т. 3. – С. 52–54.

30. Головацкая, И.Ф. Действие экдистерона на ростовые процессы в растениях / И.Ф. Головацкая // там же. – 2003в. – Т. 1. – С. 152–154.

31. Головацкая И.Ф. Регуляторная роль зеленого света в морфогенезе и гормональном балансе *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh / И.Ф. Головацкая // Вестн. Томского гос. ун-та. – 2003г. – № 8. – С. 43–47.

32. Головацкая, И.Ф. К вопросу о фоторецепторе зеленого света / И.Ф. Головацкая, М.В. Ефимова // Вестн. Томского гос. ун-та. – 2003. – № 8. – С. 48–50.

33. Головацкая, И.Ф. Действие экдистерона на морфофизиологические процессы в растении / И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2004а. – Т. 51, № 3. – С. 452–458.

34. Головацкая, И.Ф. Рецепция зеленого света проростками *Arabidopsis thaliana* // Ноосферные знания и технологии / И.Ф. Головацкая, В.А. Светличный, М.В. Ефимова и др. / Под ред. Г.В. Майера. Вып.1. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004. – С. 23–26.

35. Головацкая, И.Ф. Роль селективного света в продукционном процессе растений / Р.А.

Карначук, И.Б. Минич, М.В. Ефимова, И.Ф. Головацкая // Проблемы рационального использования растительных ресурсов: матер. межд. практ. конф. (сент. 2004 г.). – Владикавказ, 2004. – С. 263–264.

36. Головацкая, И.Ф. Брассиностероиды и морфогенез *Arabidopsis* / И.Ф. Головацкая // Актуальные проблемы медицины и биологии / Под ред. Н.Н. Ильинских. – Томск: Сиб. гос. мед ун-т. – 2004б. – Т. 3, № 1. – С. 74–76.

37. Головацкая, И.Ф. Участие жасмоновой кислоты в регуляции роста *Arabidopsis thaliana* / И.Ф. Головацкая, М.В. Ефимова // Естествознание и гуманизм / Под ред. Н.Н. Ильинских. – Томск: Лаб. операт. полиграфии Сиб ГМУ, 2004. – Т. 1, № 2. – С. 58–60.

38. Головацкая, И.Ф. Роль гиббереллинов в процессах роста и развития арабидопсиса на селективном свете / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, М.В. Ефимова, А.Н. Шилкина // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: матер. 6 межд. симп. (13–17 июня. 2005 г.). – Пушкино-на-Оке, 2005. – Т. II. – С. 47–49.

39. Головацкая, И.Ф. Роль криптохрома 1 и фитохромов в регуляции фотоморфогенетических реакций растений на зеленом свете / И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 6. – С. 822–829.

40. Головацкая, И.Ф. Роль красного люминесцентного излучения низкой интенсивности в регуляции морфогенеза и гормонального баланса *Arabidopsis thaliana* / А.С. Минич, И.Б. Минич, Н.С. Зеленчукова, Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая и др. // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 6. – С. 863–868.

41. Головацкая, И.Ф. Роль криптохрома 1 и фитохромов А-Е в регуляции роста арабидопсиса на зеленом свете / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук, М.В. Ефимова и др. // Вестн. Томского гос. ун-та. – 2007. – № 297. – С. 184–187.

42. Головацкая, И.Ф. Динамика роста растений и содержание эндогенных фитогормонов в процессе ското- и фотоморфогенеза / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 3. – С. 461–468.

43. Головацкая, И.Ф. Роль гиббереллинов и брассинолида в регуляции роста и развития арабидопсиса / И.Ф. Головацкая, Ю.М. Винникова // Современная физиология растений: от молекул до экосистем: матер. межд. конф. Часть 1. (Сыктывкар, 18–24 июня 2007 г.). – Сыктывкар, 2007а. – С. 266–268.

44. Головацкая, И.Ф. Фоторецепторы CRY1, PHV и брассинолид в регуляции онтогенеза арабидопсиса / И.Ф. Головацкая, Н.М. Никонорова, М.А. Шубина и др. // там же. – С. 268–270.

45. Головацкая, И.Ф. Взаимодействие сигналов синего, зеленого света и брассиностероидов на ранних этапах онтогенеза / М.В. Ефимова, Р.А. Карначук, И.Ф. Головацкая и др. // там же. – С. 278–280.

46. Головацкая, И.Ф. Жасмоновая кислота и синий свет в морфогенезе арабидопсиса / Р.А. Карначук, М.А. Большакова, М.В. Ефимова, И.Ф. Головацкая // там же. – С. 290–291.

47. Головацкая, И.Ф. Роль CRY1 и брассинолида в регуляции роста, развития и продуктивности *Arabidopsis thaliana* / И.Ф. Головацкая, Н.М. Никонорова // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: матер. VII межд. симп. – М.: РУДН, 2007. – Т. 1. – С. 250–253.

48. Головацкая, И.Ф. Роль гиббереллинов и брассиностероидов в регуляции роста и развития арабидопсиса / И.Ф. Головацкая, Ю.М. Винникова // Вестник ТГПУ. – 2007б. – Вып. 6 (69). – С. 48–53.

49. Головацкая, И.Ф. Рост и продуктивность растений в зависимости от их чувствительности к свету и способа обработки брассинолидом / И.Ф. Головацкая, Н.М. Никонорова // Агрехимия. – 2008. – № 1. – С. 46–51.

50. Головацкая, И.Ф. Влияние жасмоновой кислоты на морфогенез и содержание фотосинтетических пигментов у проростков *Arabidopsis* на зеленом свете / И.Ф. Головацкая, Р.А. Карначук // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 2. – С. 240–244.

51. Головацкая, И.Ф. Регуляция гиббереллинами роста, развития и гормонального баланса

растений *Arabidopsis* на зеленом и синем свету / И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2008а. – Т. 55, № 3. – С. 348–354.

52. Головацкая, И.Ф. Интеграция сигналов синего света и жасмоновой кислоты в морфогенезе *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh / Р.А. Карначук, М.А. Большакова, М.В. Ефимова, И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 665–670.

53. Головацкая, И.Ф. Взаимодействие гибберелловой кислоты и 24-эпибрассинолида в регуляции скотоморфогенеза проростков *Arabidopsis thaliana* / И.Ф. Головацкая // Физиология растений. – 2008б. – Т. 55, № 5. – С. 738–745.

54. Golovatskaya, I.F. Abscisic Acid in Hormonal Balance of a Leaf under Selective Light / R.A. Karnachuk, I.F. Golovatskaya // International Symposium Physiology of Abscisic Acid. – Pushchino, 1993. – С. 13.

55. Golovatskaya, I.F. Blue light and endogenous phytohormones in *Arabidopsis* morphogenesis / R.A. Karnachuk, S.Y. Tischenko, I.F. Golovatskaya // 12th Congr. Feder. Eur. Soc. Plant Biol. (21–25 August 2000) – Budapest, 2000. – P. 77.

56. Golovatskaya, I.F. Blue and green light effect on growth and Hormonal balance of *Arabidopsis thaliana* / R.A. Karnachuk, I.F. Golovatskaya, S.Yu. Tichtchenko // 17th International Conference on Plant Growth Substances (Brno, Czech Republic Juli 1–6, 2001). – IPGSA, 2001. – P. 134.

57. Golovatskaya, I.F. Simultaneous effect of epybrassinolide and monochrome light on the level of growth substances in *Arabidopsis* / R.A. Karnachuk, V.A. Khripach, I.F. Golovatskaya, M.V. Efimova // 13th Congr. Feder. Eur. Soc. Plant Biol. (Hersonissos, Heraklion, Crete, Greece, 2–6 september 2002). – Heraklion, 2002 – P. 779.

58. Golovatskaya, I.F. The Role of jasmonic acid and blue light in regulation of morphogenesis of *Arabidopsis thaliana* / I.F. Golovatskaya, R.A. Karnachuk, M.V. Efimova et al. // 14th Congr. Feder. Eur. Soc. Plant Biol. (23–27 august, 2004. Cracow, Poland). – Cracow, 2004. – PG-037.

59. Golovatskaya, I.F. The role of brassinosteroids in transduction of green light signals / M.V. Efimova, R.A. Karnachuk, I.F. Golovatskaya, V.A. Khripach // 2nd International Symposium "Plant growth Substances: intracellular hormonal signaling and applying in agriculture" (8–12 October, 2007 Kiev, Ukraine). – Kiev, 2007. – P. 19.

60. Golovatskaya, I.F. Blue light and jasmonic acid signaling systems interaction / R.A. Karnachuk, M.A. Bolshakova, M.V. Efimova, I.F. Golovatskaya, N.V. Witushkina // там же. – P. 97.

61. Golovatskaya, I.F. The role of brassinosteroids in transduction of light signals / M.V. Efimova, R.A. Karnachuk, I.F. Golovatskaya et al. // *Physiol. Plant.* – 2008. – Vol. 133. – P01-026. (XIV Congr. Feder. Eur. Soc. Plant Biol. 17–22 august, 2008. Tampere, Finland).

Автор выражает искреннюю глубокую благодарность научному консультанту **профессору Р.А. Карначук** за поддержку и постоянную консультативную помощь на всех этапах работы.

Автор выражает благодарность с.н.с. И.Н. Протасовой (институт физиологии растений РАН, г. Москва) за оказание помощи в проведении вегетационного опыта в фитотроне, проф. Копыловой Т.Н. и с.н.с. Светличному В.А. (Томский государственный университет) за помощь в проведении эксперимента с применением лазерной техники, ст. преп. М.В. Ефимовой (Томский государственный университет), доц. И.Б. Минич (Томский государственный педагогический университет) за помощь в проведении ряда экспериментов, с.н.с. В.С. Райда (институт химии нефти СО РАН) и доц. А.С. Минич (Томский государственный педагогический университет) за предоставление разработанных ими светокорректирующих пленок для выращивания растений в условиях закрытого грунта и анализ их оптических свойств.