

А. С. Минич, И. Б. Минич, О. В. Шайтарова, Н. Л. Пермякова

## СИНТЕЗ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И МОРФОГЕНЕЗ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ АДАПТАЦИИ К УФ-А ИЗЛУЧЕНИЮ

Изучали влияние УФ-А излучения низкой интенсивности на морфогенез, накопление фотосинтетических пигментов и синтез аскорбиновой кислоты *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа *Ler* и мутанта *hy4*, имеющего нарушения в синтезе *cry1*. Световая адаптация растений к облучению их УФ-А светом проявляется на начальном этапе онтогенеза через синтез и накопление аскорбиновой кислоты, изменение динамики уровня фотосинтетических пигментов. Это отражается в ингибировании ростовых реакций, в замедленном развитии репродуктивных органов растений и в удлинении сроков вегетации. У растений *Ler* эти процессы приводят к снижению реальной семенной продуктивности, у растений *hy4*, имеющих нарушения в синтезе *cry1*, изменений не выявлено. Сделано предположение, что основную роль в процессе адаптации к действию УФ-А излучения низкой интенсивности выполняют не только фотосинтетические пигменты, но и фоторегуляторные пигменты.

**Ключевые слова:** *arabidopsis thaliana*, дикий тип *Ler*, мутант *hy4*, УФ-А излучение низкой интенсивности, морфогенез, продуктивность, фотосинтетические пигменты, аскорбиновая кислота.

Изучение закономерностей в отношениях между растениями и средой их обитания на разных уровнях организации является одной из главных фундаментальных задач биологической науки, так как растительность представляет собой важнейший компонент абсолютного большинства экосистем и биосферы в целом. Важнейшим фактором окружающей среды для растений является свет, который выступает источником энергии для фотосинтеза и регулятором всех сторон жизнедеятельности растительного организма [1–3]. Растения получают из окружающей среды световые сигналы, которые являются индикаторами свойств окружающей обстановки и используют полученную информацию для адаптации и развития [3, 4]. Это осуществляется с помощью фоторецепторов с целью определения спектрального состава, интенсивности и направленности светового потока, продолжительности и периодичности освещения [5].

За длительную историю эволюционного развития растения выработали способность использовать не только ФАР, но и УФ-А лучи для различных реакций роста и развития. Поглощение УФ-А лучей различными частями растений достигает весьма большой величины, что определяет роль УФ-А излучения как важного фактора экологии [6, 7]. Существуют различные мнения о роли УФ-А радиации в жизнедеятельности растений. Отмечается как угнетающее, так и стимулирующее влияние УФ-А лучей или их действие приравнивают по значению к видимым лучам [6]. Известно точно, что действие УФ-А излучения малоэффективно при коротких экспозициях, но эффективно при длительном облучении и высокой интенсивности [8]. Роль УФ-А света значительно возрастает при совместном действии с ФАР, особенно в синергизме с синим светом (СС) [5, 9], т. е. УФ-А излучение

является важным фактором для протекания процессов фотоморфогенеза [10]. Однако доля УФ-А излучения в световом потоке даже при максимальном солнцестоянии невелика, в утренние и вечерние часы практически равна нулю. Поэтому актуальным и перспективным аспектом проблемы фотоморфогенетической регуляции является установление набора фотозависимых реакций, и в частности тех из них, которые касаются участия УФ-А света в регуляции ростовых и фотоморфогенетических реакций.

Целью работы явилось выяснение изменений в морфогенезе, накоплении фотосинтетических пигментов и синтезе аскорбиновой кислоты (АК) *Arabidopsis thaliana* при адаптации к УФ-А излучению.

В работе использовали две линии *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., выращенных из семян, полученных в «The University of Nottingham». Первая линия *Landsberg erecta* (*Ler-0*) является фоновой для большого числа мутационных линий [11–14]. Вторая линия *hy4*, полученная на основе *Ler*, является дефектной по фоторецептору синего света и УФ-А излучения – по структуре *CRY1* [15]. Мутант проявляет пониженную чувствительность к продолжительному облучению СС и УФ-А при фотоморфогенезе проростков [14, 16].

Растения выращивали с фотопериодом 16 часов в двух различных световых условиях, высевая семена в невысокие предварительно дренированные емкости с грунтом, в качестве которого использовали смесь равных количеств чернозема, перегноя и торфа. В первом варианте (контроль) растения выращивали на белом свете (БС) от люминесцентных ламп L 37 W/77 «Fluora» (Osram, Германия) с интенсивностью светового потока 101 Вт/м<sup>2</sup>. Во втором варианте (опыт) растения выращивали на комбинированном свете, состоящем из БС и УФ-А излучения (БС+УФ), источником которого служила

лампа TLD 36 W/08 «Black Light» (Philips, Нидерланды) (интенсивность 0.35 Вт/м<sup>2</sup>). Интенсивность светового потока определяли на спектрометре AvaSpec 2048 («Avantes», Нидерланды). Полив производили капиллярным способом. В процессе роста отмечали фенологические фазы, проводили морфометрические измерения растений, определения содержания фотосинтетических пигментов [17] и аскорбиновой кислоты [18].

Для статистической обработки экспериментальных результатов использовали специализирован-

ный пакет «Statistic for Windows» (программа «Excel») с доверительным интервалом 0.95. На рисунках приведены средние арифметические значения с двухсторонним доверительным интервалом из трех независимых экспериментов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях на 30 растениях.

Результаты исследований показали различные ответы *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. на УФ-А излучение низкой интенсивности в зависимости от используемой линии (таблица).

Рост *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Ler* и *hy4* в зависимости от условий освещения

Фенологические фазы		Время от начала проращивания, сутки			
		<i>Ler</i>		<i>hy4</i>	
		БС	БС + УФ	БС	БС +УФ
Появление всходов	единичное	3	4	4	4
	массовое	4	5	5	6
Раскрытие семядолей	единичное	4	5	6	5
	массовое	4	6	6	7
Появление первого листа	единичное	10	11	12	13
	массовое	10	11	13	14
Бутонизация	единичное	20	21	21	22
	массовое	21	22	23	24
Формирование боковых цветоносных побегов	единичное	23	24	24	25
	массовое	23	26	26	27
Цветение	единичное	24	25	27	28
	массовое	26	28	30	33
Формирование стручков	единичное	28	30	30	34
	массовое	30	32	33	37
Раскрытие стручков	единичное	39	42	42	46
	массовое	41	44	44	48
Гибель растения	единичное	48	52	54	56
	массовое	50	57	66	69

У растений *Ler* и *hy4* при выращивании в опыте (БС+УФ) с момента появления всходов отметили ингибирующее действие УФ-А излучения на ростовые процессы растений. Это выразилось в изменении динамики развития растений обеих линий на БС+УФ, их морфометрических параметров, удлинении срока вегетации (таблица). Динамика развития растений показала, что в присутствии УФ-А излучения растения *Ler* и *hy4* развиваются медленнее, чем на БС, причем удлиняется каждый этап онтогенеза. Так, наблюдали торможение роста цветоносных побегов, развития розеточных листьев и листовых пластин цветоносных побегов, отметили более поздний переход растений в репродуктивную фазу и фазу старения. Такое развитие растений в опыте сопряжено со значительным изменением морфометрических параметров растений, максимум которых приходится для *Ler* на 35-е сутки онтогенеза, а для *hy4* на 42-е сутки (рис. 1–3).

В этот период развития по сравнению с контролем у опытных растений отметили уменьшение длины главного цветоносного побега, количества цветоносных листьев и площади поверхности листьев: для *Ler* соответственно в 1.7, в 1.3 и в 1.7

раза, для *hy4* в 1.6, в 1.6 и в 4.1 раза. Изменение габитуса растений привело к уменьшению значений показателей сырой массы и массы сухого вещества растений в 2.9 и 4.6 раза соответственно для *Ler*, в 4.8 и в 5.3 раза (рис. 4–5).

Вследствие ингибирования УФ-А излучением ростовых реакций у *Ler* произошло значительное снижение (в 2.5 раза) реальной семенной продуктивности опытных растений (рис. 6), причем как за счет уменьшения количества стручков (в 1.5 раза), так и количества семян в стручке (в 1.7 раза). В опыте у мутанта *hy4*, как и у *Ler*, также отметили уменьшение числа репродуктивных органов в 1.3 раза, однако в отличие от растений *Ler* у них сокращение численности стручков сопровождается значительным увеличением количества семян в стручке. По сравнению с контролем (с БС) дополнительная экспозиция УФ-А излучения способствовала увеличению численности семян в стручке у растений *hy4* в 1.6 раза, вследствие чего реальная семенная продуктивность достоверно не изменяется.

Изменения морфометрических параметров растений и семенной продуктивности связаны с уровнем накопления фотосинтетических пигментов и

АК, динамика которых одинакова для обеих линий *Arabidopsis thaliana* (рис. 7–10). УФ-А излучение в начальный период онтогенеза активирует синтез АК в листьях растений (рис. 7), что соответствует описанному в [8].

Максимум содержания АК как в опыте, так и в контроле наблюдали на 21-е сутки – на начало перехода растений в репродуктивную фазу (начало бутонизации). При этом отметили увеличение содержания АК у опытных растений *Ler* в 1.9 раза, а у *hy4* в 1.3 раза по сравнению с контролем. Является известным, что АК формирует устойчивость растений ко многим неблагоприятным факторам, в том числе к действию коротковолнового излучения [19]. Можно предположить, что активный синтез АК является защитной реакцией растений в ответ на УФ-А облучение, и АК активно используется растениями в качестве защитного средства от УФ-А излучения.

Накопление АК в опыте сопряжено с ингибированием ростовых реакций, что также соответствует литературным данным, по которым АК принимает участие в биохимических превращениях, лежащих в основе роста [19], причем чем выше содержание АК, тем медленнее рост растений.

В период массового цветения и образования стручков наблюдали уменьшение уровня АК в листьях как у опытных, так и у контрольных растений. В дальнейшем на 35-е сутки на БС уровень АК увеличился, что объясняется окончанием процесса массового образования стручков. У опытных растений отметили продолжение снижения содержания АК, что может быть связано с продолжающимся процессом массового образования стручков, а также с превращениями фотосинтетического аппарата растительной клетки.

Таким образом, УФ-А излучение на начальном этапе онтогенеза растений активирует синтез и накопление АК, которая выступает в качестве защитного средства от неблагоприятного воздействия УФ-А радиации. Увеличение содержания АК на УФ-А свету сопряжено с ингибированием ростовых реакций, торможением развития и увеличением срока вегетации растений.

На БС максимальное накопление всех фотосинтетических пигментов отметили в начальный период, в дальнейшем в процессе онтогенеза наблюдали уменьшение их уровня (рис. 8–10). Динамика уровня фотосинтетических пигментов кардинально меняется на комбинированном свету (БС+УФ). В начале вегетации отметили минимальное содержание хлорофилла *a* и каротиноидов, а хлорофилла *b* – максимальное. В дальнейшем происходит накопление хлорофилла *a*, каротиноидов и уменьшение хлорофилла *b*. Такая динамика, вероятнее всего, связана с тем, что дополнительная экспози-

ция растений УФ-А излучением вызывает в начальный период вегетации ингибирование синтеза каротиноидов в розеточных листьях.

Известно, что увеличение содержания каротиноидов является защитной реакцией растений и способствует сохранению хлорофилла от фотораспада [19]. Торможение синтеза каротиноидов на начальном этапе онтогенеза (до 21 суток) УФ-А светом активирует превращение хлорофилла *a* в хлорофилл *b* в результате фотоокисления. Рост и развитие цветочных листьев (28-е сутки) способствуют накоплению в них каротиноидов, которые блокируют фотораспад хлорофилла *a*, соответственно уменьшая долю окисленной формы хлорофилла. В дальнейшем в процессе фотоокислительного старения растений, как и на БС, содержание фотосинтетических пигментов уменьшается.

В литературе представлены данные, что АК участвует в биосинтезе фотосинтетического аппарата растительной клетки, стабилизации его фотохимической активности [19]. На основании этого можно предположить, что к 28 суткам увеличение содержания хлорофилла *a*, возможно и каротиноидов, связано с расходом АК на их синтез. Таким образом, АК расходуется не только на образование репродуктивных органов растений, но и на синтез фотосинтетического аппарата, что объясняет постоянное уменьшение содержания АК в листьях опытных растений (рис. 7).

Сопоставительный анализ полученных результатов показывает, что световая адаптация растений к облучению их УФ-А светом совместно с ФАР проявляется уже на начальном этапе онтогенеза через синтез и накопление АК, с изменениями динамики уровня фотосинтетических пигментов, что отражается в ингибировании ростовых реакций, в замедленном развитии репродуктивных органов растений и в целом в удлинении сроков вегетации.

Однако у растений *Ler* и *hy4* эти процессы по-разному влияют на реальную семенную продуктивность: у *Ler* – приводят к снижению, у *hy4* – не сопровождается ее изменением. Такой результат, по нашему мнению, связан с морфогенетическими особенностями *hy4*. Известно, что данный мутант является дефектным по структуре *CRY1* [15] и проявляет пониженную чувствительность к продолжительному облучению СС и УФ-А при фотоморфогенезе проростков [14, 16]. Это приводит к тому, что в ответ на недостаточную чувствительность к УФ-А свету у мутанта включаются компенсаторные механизмы, способные более полно поглощать излучения ФАР и сохранять тем самым семенную продуктивность.

На основании одинаковой динамики уровня фотосинтетических пигментов у обеих линий (дикого

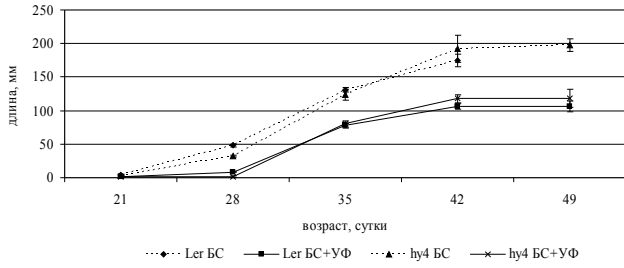


Рис. 1. Динамика длины главного цветоносного побега *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

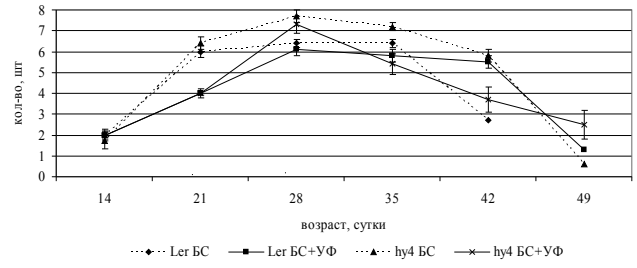


Рис. 2. Динамика количества цветоносных листьев *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

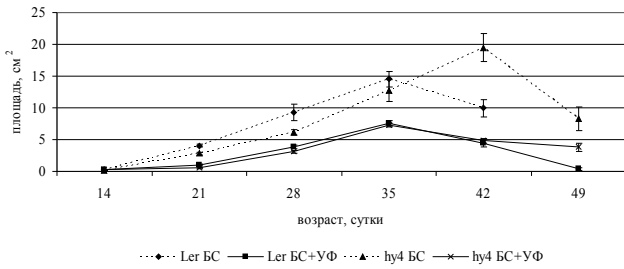


Рис. 3. Динамика площади поверхности листьев *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

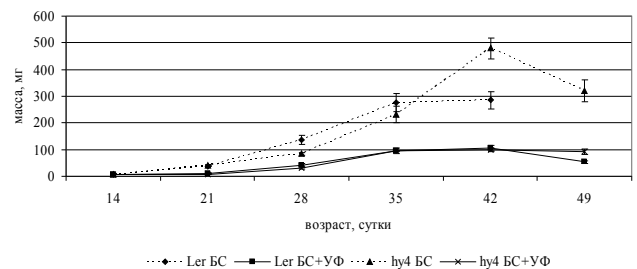


Рис. 4. Динамика сырой массы *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

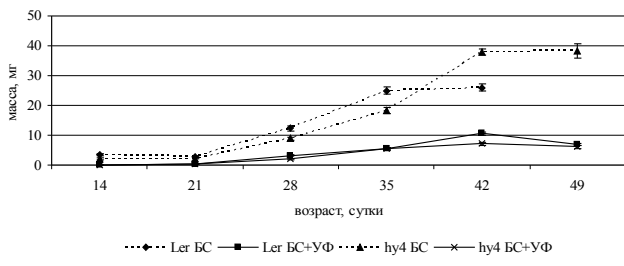


Рис. 5. Динамика сухой массы *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

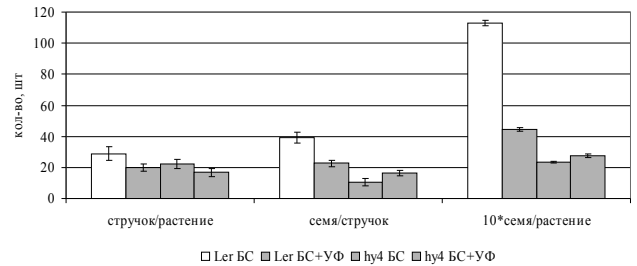


Рис. 6. Реальная семенная продуктивность *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

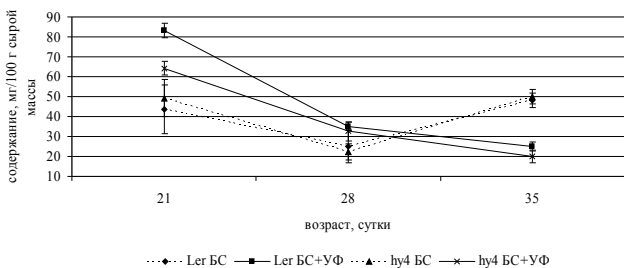


Рис. 7. Динамика содержания аскорбиновой кислоты в листьях *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

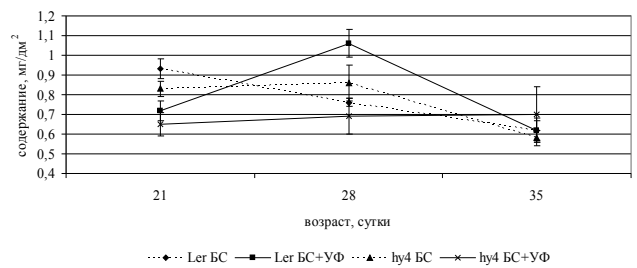


Рис. 8. Динамика содержания хлорофилла а в листьях *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

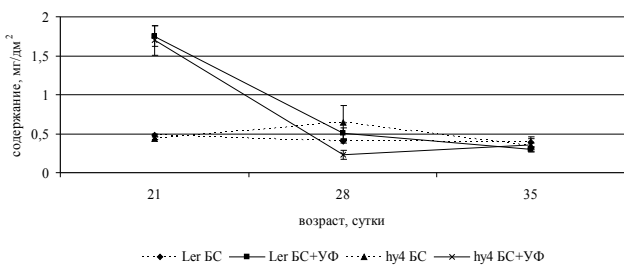


Рис. 9. Динамика содержания хлорофилла в листьях *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

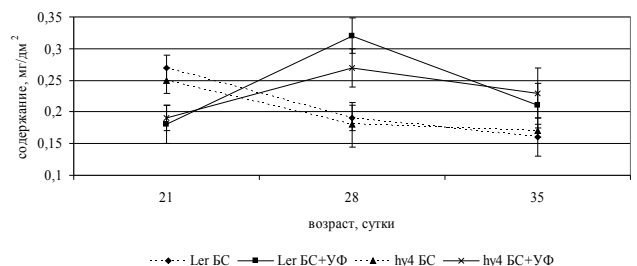


Рис. 10. Динамика содержания каротиноидов в листьях *Arabidopsis thaliana* Ler и *hy4* в зависимости от условий освещения

типа и мутанта, дефектного по структуре CRY1), но различной семенной продуктивности в опыте и контроле можно сделать предположение, что основную роль в адаптационном процессе в ответ на УФ-А излучение с интенсивностью светового потока не более 0.35 Вт/м<sup>2</sup> выполняют не только фотосинтетические пигменты, но фоторегуляторные пигменты, в частности – криптохромы.

### Список литературы

1. Stapleton A. E. Ultraviolet Radiation and Plants: Burning Questions // *The Plant Cell*. 1992. V. 4. P. 1353–1358.
2. Jackson J. A., Jenkins G. I. Extension-growth responses and expression of flavonoid biosynthesis genes in the *Arabidopsis by4* mutant // *Planta*. 1995. V. 197. P. 233–239.
3. Franklin K. A., Whitelam G. C. Light signals, phytochromes and cross-talk with other environmental cues // *J. of Experimental Botany*. 2004. V. 55. № 395. P. 271–276.
4. Kasahara M. et al. Photochemical Properties of the Flavin Mononucleotide-Binding Domains of the Phototropins from *Arabidopsis*, Rice, and *Chlamydomonas reinhardtii* // *Plant Physiology*. 2002. V. 129. P. 762–773.
5. Whitelam G. C., Devlin P. F. Light signalling in *Arabidopsis* // *Plant Physiol. Biochemistry*. 1998. V. 36. № 1–2. P. 125–133.
6. Дубров А. П. Действие ультрафиолетовой радиации на растения. М.: Изд-во Академии наук СССР, 1963. 115 с.
7. Тооминг Х. Г. Солнечная радиация и формирование урожая. Л.: Гидрометеиздат, 1977. 199 с.
8. Дубров А. П. Генетические и физиологические эффекты действия ультрафиолетовой радиации на высшие растения. М.: Наука, 1968. 257 с.
9. Christie J. M., Briggs W. R. Blue Light Sensing in Higher Plants // *The J. of Biol. Chemistry*. 2001. V. 276. № 15. P. 11457–11460.
10. Данильченко О. А., Гродзинский Д. М., Власов В. Н. Значение ультрафиолетового излучения в жизнедеятельности растений // *Физиология и биохимия культурных растений*. 2002. Т. 34. № 3. С. 187–197.
11. Borevitz J. O. et al. Quantitative Trait Loci Controlling Light and Hormone Response in Two Accessions of *Arabidopsis thaliana* // *Genetics*. 2002. V. 160. P. 683–696.
12. Кефели В. И. Фотоморфогенез, фотосинтез и рост как основа продуктивности растений. Пущино, 1991. 136 с.
13. Koornneef M., Rolffand E., Spruit C. J. P. Genetic control of light-inhibited hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* // *Pflanzenphysiol*. 1980. V. 100. P. 147–160.
14. Seed and DNA catalog // *Arabidopsis Biological Resource Center. Internet Edition*. 1997. V. 12. 266 p. URL: <http://aims.cps.msu.edu/aims>
15. Ahmad M., Cashmore A. R. *HY4* gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor // *Nature*. 1993. V. 366. P. 162–166.
16. Электронный каталог [Электронный ресурс]. – URL: <http://arabidopsis.info>
17. Шлык А. А. Биосинтез хлорофилла и формирование фотосинтетических систем // В сб.: Теоретические основы фотосинтетической продуктивности. М.: Наука, 1972. 460 с.
18. Ермаков А. И., Арасимович И. Б. Методы биохимического исследования растений. Л.: Колос, 1972. 456 с.
19. Чупахина Г. Н. Система аскорбиновой кислоты растений: монография. Калининград: Калининград. ун-т, 1997. 120 с.

Минич А. С., кандидат химических наук, доцент.  
**Томский государственный педагогический университет.**  
Ул. Киевская, 60, г. Томск, Томская область, Россия, 634061.  
E-mail: [minich@tspu.tdu.ru](mailto:minich@tspu.tdu.ru)

Минич И. Б., кандидат биологических наук, доцент.  
**Томский государственный педагогический университет.**  
Ул. Киевская, 60, г. Томск, Томская область, Россия, 634061.  
E-mail: [minich@tspu.tdu.ru](mailto:minich@tspu.tdu.ru)

Шайтарова О. В., аспирант.  
**Томский государственный педагогический университет.**  
Ул. Киевская, 60, г. Томск, Томская область, Россия, 634061.  
E-mail: [bhf@tspu.edu.ru](mailto:bhf@tspu.edu.ru)

Пермякова Н. Л., студент.  
**Томский государственный педагогический университет.**  
Ул. Киевская, 60, г. Томск, Томская область, Россия, 634061.  
E-mail: [bhf@tspu.edu.ru](mailto:bhf@tspu.edu.ru)

Материал поступил в редакцию 30.04.2009.

*A. S. Minich, I. B. Minich, O. V. Shajtarova, N. L. Permjakova*

**SYNTHESIS OF ASCORBIC ACID AND MORPHOGENESIS OF *ARABIDOPSIS THALIANA*  
BY ADAPTATION TO UV RADIATION**

We studied the influence of UV radiations of low intensity on the morphogenesis, accumulation of photosynthetic pigments and synthesis of ascorbic acid *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Wild type Ler and a mutant *hy4*, having infringement in synthesis *cry1*. Light adaptation of plants to their irradiation UV light is shown at the initial stage of the ontogenesis through synthesis and accumulation of ascorbic acid, change of dynamics of level of photosynthetic pigments. It is reflected in inhibition reactions of grows, in the slowed down development of reproductive bodies of plants and in lengthening of terms of vegetation. Among plants Ler these processes lead to decrease in real seed efficiency, among plants *hy4*, having infringements in synthesis *cry1*, changes is not revealed. The assumption is made, that the basic role in the course of adaptation to action of UV radiation of low intensity carry out not only photosynthetic pigments, but photoregulation pigments.

**Key words:** *arabidopsis thaliana*, wild type *Ler*, a mutant *hy4*, UV radiation of low intensity, morphogenesis, efficiency, photosynthetic pigments, ascorbic acid.

Minich A. S.

**Tomsk State Pedagogical University.**

Ul. Kievskaya, 60, Tomsk, Tomsk oblast, Russia, 634061.

E-mail: minich@tspu.tdu.ru

Minich I. B.

**Tomsk State Pedagogical University.**

Ul. Kievskaya, 60, Tomsk, Tomsk oblast, Russia, 634061.

E-mail: minich@tspu.tdu.ru

Shajtarova O. V.

**Tomsk State Pedagogical University.**

Ul. Kievskaya, 60, Tomsk, Tomsk oblast, Russia, 634061.

E-mail: bhf@tspu.edu.ru

Permjakova N. L.

**Tomsk State Pedagogical University.**

Ul. Kievskaya, 60, Tomsk, Tomsk oblast, Russia, 634061.

E-mail: bhf@tspu.edu.ru