

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»**

УДК 577.3:57.04

**ВЯЗОВ
Евгений Викторович**

**МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО
АППАРАТА И ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА
К СВЕТОДИОДНОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ РАЗЛИЧНОГО
СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА**

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.01.02 – Биофизика

Минск, 2017

Работа выполнена в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси».

Научный руководитель:

Шалыго Николай Владимирович,
член-корреспондент НАН Беларуси,
доктор биологических наук, доцент,
заведующий лабораторией биофизики и
биохимии растительной клетки ГНУ
«Институт биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси»

Официальные оппоненты:

Кабашникова Людмила Федоровна
доктор биологических наук, доцент,
заведующий лабораторией прикладной
биофизики и биохимии ГНУ «Институт
биофизики и клеточной инженерии НАН
Беларуси»

Янчевская Тамара Георгиевна
кандидат биологических наук, заведующий
лабораторией оптимизации
минерального питания и фотосинтеза ГНУ
«Институт экспериментальной ботаники
им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси»

Оппонирующая организация:

Белорусский государственный университет

Защита состоится «28» декабря 2017 г. в 14:00 на заседании Совета по защите диссертаций Д 01.37.01 в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27.

Телефон учёного секретаря: (017) 332-16-04; факс: (017) 284-23-59; e-mail: pshybytko@ibp.org.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси».

Автореферат разослан « 27 » ноября 2017 г.

Учёный секретарь Совета
по защите диссертаций Д 01.37.01,
кандидат биологических наук



Н. Л. Пшибытко

ВВЕДЕНИЕ

Для выращивания растений при отсутствии либо недостатке естественного освещения с целью достижения их нормальной продуктивности применяют искусственные источники света, наиболее перспективными из которых на сегодняшний день считаются светодиоды (СД), обладающие высокой энергоэффективностью и позволяющие конструировать светильники с заданным спектральным составом излучения для приближения к оптимальному для растения спектру солнечного света [Самарин и др., 2013; Dutta Gupta et al, 2013]. Чаще всего для этих целей используют СД, излучающие свет в красной либо синей областях спектра (далее – КСД и ССД) [Бахарев и др., 2010; Hogewoning et al., 2010], который поглощают фотосинтетические пигменты и фоторегуляторные рецепторы растений. Применение такого освещения может сказываться на окислительном потенциале клеток растений и на функционировании антиоксидантной системы из-за высокой доли фотосинтетически активного света [Son and Oh, 2015]. Однако число работ, посвящённых влиянию света различных длин волн на указанные процессы, весьма ограничено [Samuolienė et al., 2012; Dutta Gupta et al., 2015]. Механизмы действия света различного спектрального состава на окислительные процессы и функционирование защитной системы растения, а также на пигментный состав и активность фотосистем (ФС) в растительном организме остаются неясными.

Представляется актуальным и перспективным провести комплексное исследование влияния СД излучения разного спектрального состава на интенсивность окислительных процессов, структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата и активность защитной системы на примере растений огурца, выращиваемых в закрытом грунте, уделив особое внимание антиоксидантной системе и разработке теоретических основ создания СД осветителей, оптимизированных для выращивания растений.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами. Диссертационная работа выполнена в рамках ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологий» по теме «Исследование молекулярно-генетических механизмов комплексной и приобретённой устойчивости растений к действию абиотических и биотических факторов внешней среды с целью разработки новых биотехнологий повышения устойчивого развития сельскохозяйственных культур» № гос. регистрации 20112486 (2010-2013 гг.) и по заданию «Изучение механизмов функционирования клеток водорослей при использовании светодиодного освещения с целью создания новых высокоэффективных источников фотосинтетически активного света» № гос. регистрации 20140136 (2014-2015 гг.) г., а также по гранту НАН Беларуси для аспирантов «Динамика окислительных

процессов и активность защитной системы растений при использовании узкополосных источников света (светодиодов)» № гос. регистрации 20130811 (2013 г.) и 20141594 (2014 г.).

Тема диссертационной работы соответствует приоритетному направлению фундаментальных исследований Республики Беларусь на 2011-2015 гг. (Постановление Совета Министров от 19 апреля 2010 г. № 585) – 3.1. биохимия, биофизика и физиология растительной, животной и микробной клетки, её надмолекулярных структур, биологических макромолекул и низкомолекулярных биорегуляторов, в том числе ферментов и гормонов, а также приоритетному направлению научных исследований Республики Беларусь на 2016-2020 гг. (Постановление Совета Министров от 12 марта 2015 г. № 190) – 3. Биологические системы и технологии.

Цель и задачи исследования. Цель работы – выявить механизмы адаптации фотосинтетического аппарата и защитной системы растения огурца, включая антиоксидантную систему, к светодиодному излучению различного спектрального состава.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи.

При использовании красных и синих светодиодов по отдельности и совместно в качестве источника света, в листьях растений огурца необходимо:

1. Определить содержание активных форм кислорода (АФК), в том числе H_2O_2 , и интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

2. Изучить содержание фотосинтетических пигментов и белков ФС, а также активность ФС2.

3. Изучить содержание низкомолекулярных антиоксидантов аскорбата, глутатиона, водорастворимых фенолов, токоферолов.

4. Провести анализ активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), включая анализ её изоформ, локализованных в разных клеточных компартментах, каталазы (КАТ), глутатионредуктазы (ГР), аскорбатпероксидазы (АПО) и фенольной пероксидазы (ФПО).

5. Выявить особенности накопления стрессовых белков-шаперонов БТШ70 и экспрессии генов, кодирующих связанные с патогенезом PR-белки (PR-1, PR-2 и PR-8).

6. На основе полученных данных оптимизировать спектральный состав светодиодного осветителя и изучить интенсивность окислительных процессов, структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата и активность защитной системы растения в условиях применения оптимизированного освещения.

Объектом исследования служили растения огурца (*Cucumis sativus* L.) тепличного сорта Кураж, районированного в Республике Беларусь.

Предметом исследования являлись окислительные процессы,

фотосинтетический аппарат и защитная система растений огурца.

Положения, выносимые на защиту

1. В растениях огурца, выращиваемых под светом красных либо синих светодиодов, развивается окислительный стресс, выражающийся в накоплении АФК и сопровождающийся усилением процессов ПОЛ. При освещении красными светодиодами окислительные процессы в клетках растений протекают более интенсивно, чем при использовании синих светодиодов. Интенсивность окислительных процессов при совместном использовании красных и синих светодиодов снижается по сравнению с применением красных и синих светодиодов по отдельности.

2. Фотосинтетический аппарат растений адаптируется к свету красных и синих светодиодов, используемых по отдельности, а также к их совместному действию, что проявляется в активации нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, уменьшении размера внешних антенн ФС и увеличении числа реакционных центров ФС. При использовании синего света и, в большей степени, в случае совместного применения красных и синих светодиодов, такая адаптация протекает более интенсивно и оказывается более эффективной, чем при использовании только красных светодиодов.

3. Освещение растений светом красных (но не синих) светодиодов приводит к интенсификации работы водно-водного цикла детоксикации АФК и способствует активации компонентов антипатогенной защиты. При совместном использовании красных и синих светодиодов происходит частичная нормализация активности защитной, в том числе антиоксидантной, системы растений огурца.

4. Добавление жёлтых и голубых светодиодов к красным и синим позволяет достичь практически полной нормализации функционирования защитной системы, что обусловлено наиболее эффективной адаптацией фотосинтетического аппарата к условиям освещения.

Личный вклад соискателя

Экспериментальный материал, представленный в диссертации, получен автором самостоятельно. Соискателем проведена статистическая обработка экспериментальных данных и их анализ. Постановка целей и задач исследования, интерпретация результатов, подготовка к публикации печатных работ осуществлялись совместно с научным руководителем д.б.н., членом-корреспондентом НАН Беларуси Н.В. Шалыго при решающем участии автора.

Апробация результатов

Результаты исследований были представлены на XII международной научной конференции молодых учёных «Научные, прикладные и образовательные аспекты физиологии, генетики и биотехнологии растений и микроорганизмов» (Киев, Украина, 2012); Международных научных конференциях «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Минск, 2012,

2014 и 2016 гг.); Международной научно-практической конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» (Новосибирск, Россия, 2013); Международной научной конференции и школе молодых учёных «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий» (Калининград, Россия, 2014); 2-ом Международном симпозиуме “Secondary metabolites (chemistry, biology and biotechnology)” (Москва, 2014); конференции молодых учёных биохимиков «Современные проблемы биохимии» (Гродно, 2015 г.), Всероссийской научной конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений» (Москва, 2015 г.); I Белорусском биохимическом конгрессе «Современные проблемы биохимии» (Гродно, 2016 г.); конференции молодых учёных биохимиков и молекулярных биологов с международным участием «Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии» (Гродно, 2017 г.).

Опубликованность результатов

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, 10 статей в сборниках научных трудов и 3 тезиса докладов. Общее количество опубликованных авторских листов в изданиях, включённых в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований – 1,84; других публикаций – 3,05 авторских листа.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное изучение влияния излучения красных и синих светодиодов на интенсивность окислительных процессов, структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата и активность защитной системы в растениях огурца. Показано, что освещение светом красных и, в меньшей степени, синих светодиодов воспринимается растительным организмом как стрессовый фактор и вызывает накопление АФК, что приводит к интенсификации процессов ПОЛ и сопровождается снижением активности ФС2. Продемонстрирована адаптация фотосинтетического аппарата к избытку активно поглощаемого фотосинтетическими пигментами света красных и синих светодиодов, используемых по отдельности либо совместно, которая характеризовалась усилением нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, уменьшением размера антенн и ростом числа реакционных центров ФС1 либо ФС2. Установлено, что наиболее эффективно адаптация фотосинтетического аппарата протекает в случае совместного использования синих и красных светодиодов. Показано, что в отличие от синего красный свет активизирует защитную систему – увеличивает активность компонентов водно-водного цикла (СОД, АПР, ГР), ФПО и вызывает усиление экспрессии гена, кодирующего антипатогенный белок PR-2. Установлено, что совместное

применение красных и синих светодиодов позволяет достичь только частичной нормализации активности защитной системы растения, в то время как добавление жёлтых и голубых светодиодов приводит к практически полной нормализации её активности на фоне высокой эффективности адаптации фотосинтетического аппарата к условиям освещения.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы (глава 1), описания объектов и методов исследования (глава 2), изложения полученных результатов и их обсуждения (главы 3-5), заключения, библиографического списка, включающего 247 источников литературы (57 – на русском, 189 – на английском, 1 – на украинском языке), списка публикаций соискателя – 18 работ (17 – на русском, 1 – на английском языке) и приложений. Работа изложена на 152 страницах, содержит 48 рисунков и 9 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

В работе использовали первые листья растений огурца (*Cucumis sativus* L., сорт Кураж). Растения выращивали под белым светом люминесцентных ламп TL-D 36W/765 фирмы Philips до появления зачатка первого листа (10 суток). Затем растения освещали, используя КСД (630-650 нм, вариант К), ССД (450-465 нм, вариант С) и одновременно КСД и ССД в соотношении 2:1 по энергии излучения (вариант К+С), используя светильники со СД XLamp XR-C фирмы Cree (в течение 10 суток), до полного развития первого листа. В отдельных опытах применяли светильник, сконструированный с использованием четырёх типов СД, излучающих в красной (630-650 нм), синей (450-465 нм), жёлтой (590-595 нм) и голубой (465-485 нм) областях спектра в соотношении 3:3:1:1 по энергии излучения (оптимизированный осветитель, вариант ОО), а также отдельно СД, излучающие в жёлтой (590-595 нм) области спектра. Контролем служили растения огурца, освещаемые белым светом люминесцентной лампы (вариант Б). Все растения выращивались при $23 \pm 1^\circ\text{C}$ и влажности $65 \pm 5\%$ в режиме 14 ч света (интенсивность 5 Вт/м^2 для всех вариантов освещения) и 10 ч темноты.

Количество хлорофилла a, b и каротиноидов в экстрактах определяли при помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии [Rodriguez-Amaya, Kimura, 2004; Milenković et al., 2012] на хроматографе «Shimadzu LC 20 Prominence» (Shimadzu, Япония). *Параметры активности ФС2* определяли методом индукции флуоресценции хлорофилла на РАМ-флуориметре «Teaching-РАМ» (Heinz Walz, Германия) [Корнеев, 2002]. *Спектры низкотемпературной флуоресценции* хлорофилла фотосистем регистрировали на установке, сконструированной в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН

Беларуси [Доманский и др., 1986]. *Общее содержание АФК и содержание H_2O_2* определяли по окислению дихлорфлуоресцеина (ДХФ) [Crow, 1997; Okuda et al., 1991], применяя спектрофлуориметр «Solar CM 2203» (Беларусь). *Количественное определение продуктов ПОЛ* проводили с помощью теста с тиобарбитуровой кислотой, используя спектрофотометр «Uvikon-931» (Германия) [De Vos et al., 1989]. *Проницаемость клеточных мембран* определяли по выходу электролитов и свободных нуклеотидов из листа, используя кондуктометр «HI9932» (HANNA Instruments, Германия) [Кожушко, 1975; Конев, Мажуль, 1977]. *Анализ содержания аскорбата* проводили по спектрофлуориметрическому методу [Law et al., 1983]. *Содержание глутатиона* определяли по флуоресценции конъюгатов с ортофталевым альдегидом [Шалыго и др., 2007]. *Фенольные соединения* определяли спектрофотометрически по [Запрометов, 1974]. *Содержание токоферола* определяли при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии [Lang et al., 1992]. *Для определения активности АПО* использовали катализируемую АПО реакцию восстановления H_2O_2 аскорбатом [Nakano, Asada, 1981]. *Активность ГР* определяли по кинетике окисления НАДФН [Gechev et al., 2002]. *Определение активности изоформ СОД* проводили с помощью нативного гель-электрофореза по восстановлению нитросинего тетразолия [Beauchamp, Fridovich, 1971]. *Активность КАТ* определяли по скорости разрушения H_2O_2 в экстрактах листьев [Rios-Gonzales et al., 2002]. *Для определения активности ФПО* использовали реакцию восстановления H_2O_2 гваяколом. *Содержание БТШ70 и белков фотосистем* определяли с помощью иммуноблотинга, используя соответствующие поликлональные антитела (Agrisera, Швеция) [Jansson et al., 1997]. *Анализ экспрессии генов, кодирующих белки PR-1, PR-8 и PR-2* осуществляли при помощи ПЦР с использованием рассчитанных нами генспецифичных праймеров для генов, кодирующих данные белки, с последующим денатурирующим электрофорезом продуктов реакции [Доманская и др., 2011]. *Содержание белка* в экстрактах определяли по методу Bradford [1976]. *Для определения сухой массы и массовой доли воды* в листьях пробы высушивали в вакуумном сушильном шкафу Vacucell 111 Standard (ВМТ, Чехия), и взвешивали. В работе приведены средние арифметические значения для 3-5 экспериментов и их стандартные ошибки. Отличия по отношению к контролю оценивали с помощью критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$.

Интенсивность окислительных процессов в листьях огурца при освещении светом СД

Проведён анализ интенсивности окислительных процессов в растениях огурца, их морфометрических показателей и структурно-функциональных параметров фотосинтетического аппарата при использовании СД излучения со спектральными полосами в красной и синей области как совместно, так и по отдельности. Показано, что применение КСД для освещения растений привело к

частичной дезориентации листовых пластин, которые не всегда располагались перпендикулярно к падающему свету. Под синим светом растения были почти в 2 раза выше контроля, которым служили растения, выращиваемые под белым светом люминесцентных ламп. При совместном использовании КСД и ССД опытные растения по высоте не отличались от контрольных (рисунок 1). Значительных различий между изученными опытными вариантами и контролем по площади листа и по содержанию воды в листе не зарегистрировано.



Варианты: Б – Контроль, люминесцентная лампа, К – КСД (630-650 нм), К+С – КСД совместно с ССД (630-650 нм и 450-465 нм с соотношением 2:1), С – ССД (450-465 нм)

Рисунок 1. – Внешний вид растений огурца при СД освещении

Выявлено повышение общего содержания АФК в опытных растениях при использовании для освещения КСД в среднем в 2,2, при использовании ССД – в 1,7 и в варианте К+С – в 1,4 раза относительно контроля, в котором эта величина составила $10,3 \pm 4,6$ мкг ДХФ/г сухой массы. Аналогичные данные были получены и для H_2O_2 , содержание которого в среднем повышалось в 1,5, 1,2 и 1,1 раза в указанных выше вариантах по сравнению с контролем ($7,0 \pm 0,7$ отн. ед./г сухой массы) соответственно. Представленные результаты указывают на стрессовое влияние света КСД и ССД (в первую очередь КСД) на растения огурца и на существенное ослабление такого влияния при использовании ССД совместно с КСД. В условиях СД освещения интенсивность процессов ПОЛ в листьях огурца соответствовала общему количеству АФК и H_2O_2 . Так, содержание продуктов ПОЛ в листьях было на $66 \pm 8\%$ выше контроля для КСД и на $60 \pm 7\%$ для ССД. При комбинированном освещении (КСД + ССД) интенсивность процессов ПОЛ снижалась по сравнению с действием света одного типа на $22 \pm 5\%$, однако в среднем была выше контроля на $28 \pm 11\%$. Для опытных растений не было обнаружено достоверного изменения выхода электролитов из клеток по сравнению с контролем. Проницаемость клеточных мембран для свободных нуклеотидов в варианте К оказалась выше контроля на $18 \pm 5\%$, при использовании ССД – на $22 \pm 4\%$. Вариант К+С по этому показателю не отличался от контроля. Из

представленных данных видно, что использование ССД и КСД в конечном итоге не приводит к заметному нарушению проницаемости клеточных мембран.

В условиях СД освещения одного типа содержание хлорофилла ($a+b$) в растениях вариантов К и С, было ниже контроля на $26\pm 7\%$ и $28\pm 9\%$, соответственно, в то время как при одновременном использовании СД, общее содержание хлорофилла было ниже только на $18\pm 11\%$ по сравнению с контролем ($34,05\pm 3,91$ мкг/г сухой массы). Общее содержание каротиноидов в листьях огурца уменьшалось при использовании КСД и ССД по отдельности. Использование комбинированного СД освещения приводило к повышению содержания виолаксантина и β -каротина по сравнению с белым светом. Указанные различия в содержании каротиноидов не были статистически достоверными, однако они указывают на наличие определённых тенденций в изменении их содержания. Использование излучения с высокой долей красного света вызывало снижение отношения хлорофилла a/b в растениях варианта К – на $4\pm 2\%$, варианта К+С – на $5\pm 1\%$ относительно контроля. При освещении светом одних ССД снижения показателя хлорофилла a/b не было зарегистрировано. Уменьшение содержания хлорофилла (в первую очередь, хлорофилла a) при использовании КСД либо ССД вероятно связано с фоторазрушением пигментов.

Анализ активности ФС2 показал снижение эффективного квантового выхода фотохимических реакций ФС2 ($\phi_{\text{ФС2}}$) в растениях опытных вариантов К – на $8\pm 1\%$, К+С – на $8\pm 1\%$, С – на $10\pm 1\%$) по сравнению с контролем. Ингибирование ФС2 при использовании СД излучения проявилось также в снижении показателя эффективности работы электрон-транспортной цепи ETR (в вариантах К – на $8\pm 1\%$, К+С – на $8\pm 1\%$, С – на $11\pm 1\%$) и в значительном увеличении показателя нефотохимического тушения NPQ (в вариантах К – на $64\pm 11\%$, К+С – на $190\pm 11\%$, С – на $152\pm 14\%$) по сравнению с контрольными растениями. Для того, чтобы определить вклады в утилизацию световой энергии регулируемого и нерегулируемого нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла, нами были рассчитаны соответствующие квантовые выходы ϕ_{NPQ} и ϕ_{NO} (рисунок 2). ϕ_{NPQ} во всех опытных вариантах был выше контроля, причём наиболее высокие его значения получены для вариантов К+С и С. Показатель ϕ_{NO} повышался относительно контроля лишь при использовании КСД, в то время как в варианте К+С он был даже несколько ниже контроля. Полученные результаты показывают, что избыточная энергия электронного возбуждения эффективно утилизируется при нефотохимическом тушении флуоресценции в вариантах К+С и С, в то время как в случае применения КСД данный адаптационный механизм оказывается недостаточно эффективным. Высокие значения ϕ_{NO} на фоне повышенного содержания АФК при освещении светом КСД предполагают генерацию АФК в хлоропластах в ходе работы фотосинтетического аппарата.

Показано, что при использовании КСД уменьшается отношение

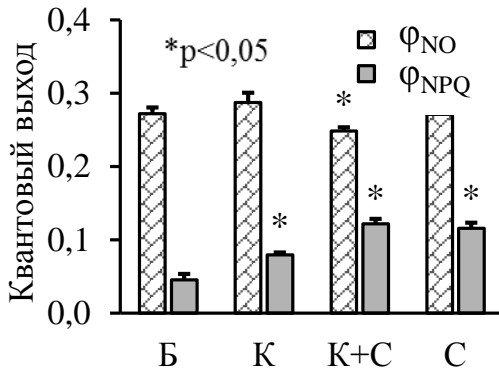


Рисунок 2. – Квантовые выходы нерегулируемого (Φ_{NO}) и регулируемого (Φ_{NPQ}) нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла при освещении светом КСД и ССД

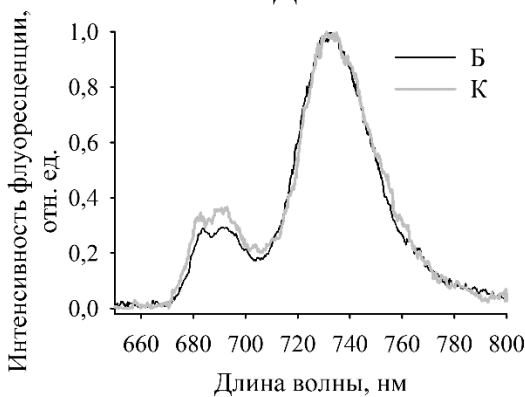


Рисунок 3. – Спектр низкотемпературной флуоресценции хлорофилла в листьях огурца при освещении светом КСД

интенсивностей флуоресценции ФС1 к ФС2 (на $14 \pm 5\%$) по сравнению с освещением белым светом (рисунок 3).

Применение ССД отдельно и совместно с КСД приводило к уменьшению содержания структурных белков внешней антенны ФС1 (Lhca1, Lhca2, Lhca3 и Lhca4) в вариантах К+С – в 1,53 раза, С – в 1,32 раза в среднем. Содержание белков мигрирующего светособирающего комплекса ЛНСII (Lhcb1 и Lhcb2) при таком освещении было также ниже контроля на $34 \pm 9\%$ в варианте К+С и на $36 \pm 8\%$ в варианте С. В то же время, красный свет приводил к заметному увеличению содержания белка D1 ядра ФС2 (на $59 \pm 3\%$), а синий – к двукратному увеличению содержания белка PsaA ядра ФС1 (кор-комплексов) (рисунок 4). Сопоставление данных по содержанию структурных белков и пигментов ФС показывает, что в растениях огурца, освещавшихся КСД, происходит уменьшение размера внешней антенны ФС2 и увеличение числа комплексов ядра ФС2 (кор-комплексов). На это указывает снижение количества ксантофилловых каротиноидов, увеличение количества β -каротина и белка D1, а также уменьшение отношения

интенсивности флуоресценции ФС1 к ФС2 на фоне высокого содержания белка D1 под красным светом. Под синим светом происходит уменьшение размера внешней антенны ФС1 и увеличение числа кор-комплексов ФС1, что обусловлено снижением количества белков Lhca1, Lhca2, Lhca3 и Lhca4 и высоким содержанием белка PsaA соответственно. В варианте К+С, по-видимому, уменьшается размер антенн обеих ФС, так как количество лютеина, неоксантина, антераксантина и всех исследованных белков антенных комплексов снижается.

Активность защитной системы в листьях огурца при освещении светом светодиодов различной длины волны

Установлено, что использование КСД для освещения растений огурца приводило к увеличению активности СОД в листьях на 32%, а ССД – к снижению на 35% (рисунок 5).

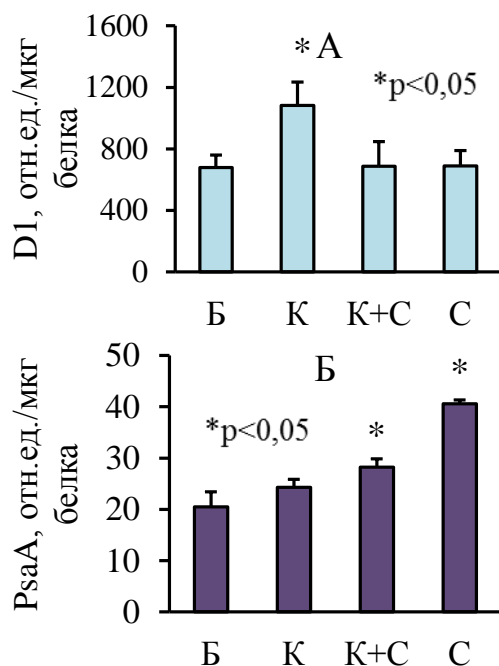


Рисунок 4. – Содержание белка D1 ядра ФС2 (А) и белка PsaA ядра ФС1 (Б) в листьях огурца при освещении светом КСД и ССД

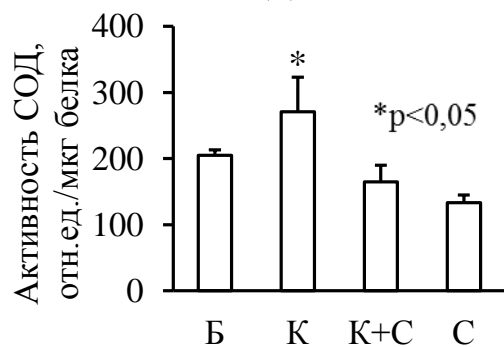


Рисунок 5. – Общая активность СОД в растениях огурца при освещении светом КСД и ССД

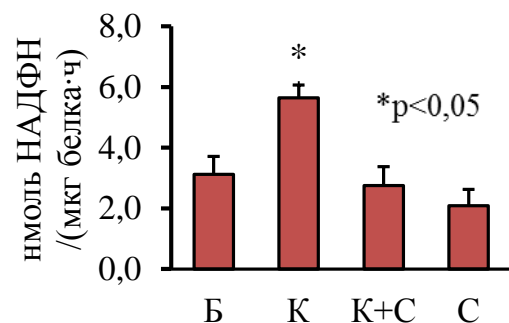


Рисунок 6. – Активность ГР в растениях огурца при освещении светом КСД и ССД

при действии излучения ССД. В варианте К+С активность ФПО приближалась к контролю. ФПО входит в группу растительных пероксидаз класса III,

Аналогичные результаты были получены и для трёх идентифицированных изоформ СОД: цитозольной Cu/Zn-СОД, митохондриальной Mn-СОД и хлоропластной Cu/Zn-СОД. Тенденция к увеличению активности СОД при освещении светом КСД, по-видимому, связана с повышением содержания АФК в этом варианте и согласуется с высоким содержанием H_2O_2 . Отсутствие активации СОД при использовании ССД, может быть связано с меньшим (по сравнению с вариантом К), содержанием АФК, а также с разными механизмами генерации и различной внутриклеточной локализацией АФК в листьях вариантов К и С.

Результаты по активности АПО и ГР, а также содержанию аскорбата и глутатиона, позволяют сделать вывод, что существенная активация аскорбат-глутатионового цикла в листьях растений огурца происходит лишь при действии излучения КСД, и проявляется в значительном увеличении содержания GSH ($19,0 \pm 2,5$ мкмоль/г против $14,6 \pm 1,3$ мкмоль/г в контроле), а также повышении активности АПО (на $57 \pm 10\%$) и ГР (на $91 \pm 11\%$, см. рисунок б) на фоне интенсивного потребления аскорбата. Для растений, освещавшихся ССД, напротив, характерна невысокая активность ГР ($80 \pm 9\%$ от контроля) при достаточно высоком содержании аскорбата, что может быть следствием замедления в таких растениях функционирования аскорбат-глутатионового цикла. В ходе изучения активности ФПО показано, что высокая активность фермента, как и в случае СОД, АПО и ГР, наблюдается в случае применения КСД ($0,195 \pm 0,042$ отн. ед./мкг·ч против $0,100 \pm 0,003$ отн. ед./мкг·ч в контроле), низкая ($0,068 \pm 0,004$ отн. ед./мкг·ч) –

представляющих семейство PR-9 антипатогенных PR-белков [Hiraga et al., 2001]. Активация ФПО под КСД может быть следствием индукции антипатогенной защиты. При этом было зарегистрировано повышение содержания водорастворимых фенолов при освещении ССД на $53\pm 4\%$ и снижение их содержания при использовании КСД на $35\pm 6\%$ по сравнению с контрольными растениями. Совместное облучение светом КСД и ССД повышало содержание водорастворимых фенолов на $30\pm 8\%$ по отношению к контролю. При этом отчасти изменения содержания фенольных соединений были обусловлены активностью их расщепления ферментом. Накопление фенолов при освещении ССД вероятно связано с активацией их биосинтеза посредством рецепторов синего света [Ahmad, Cashmore, 1993; Son, Oh, 2012]. Содержание липофильных фенолов – токоферолов, менялось таким же образом, как и водорастворимых. При использовании КСД отношение токоферолов α/γ было низким, что может быть связано с потреблением α -токоферола в условиях стресса в ходе тушения синглетного кислорода по химическому механизму. В варианте с применением излучения КСД происходило снижение активности КАТ в листьях огурца на $16\pm 7\%$. В остальных опытных вариантах активность фермента была несколько выше контроля. Известно, что в условиях действия различных стрессовых факторов активность КАТ уменьшается [Shim et al., 2003; Mhamdi et al., 2010]. Снижение активности КАТ в наших опытах при освещении КСД может также быть связано с накоплением салициловой кислоты в ходе активации антипатогенной защиты при использовании такого освещения [Shim et al., 2003; Kangasjärvi et al., 2012]. Высокая активность КАТ в вариантах С и К+С вероятно вызвана необходимостью детоксикации H_2O_2 на фоне снижения активности ФПО и аскорбат-глутатионового цикла, а также посттранскрипционной регуляцией её синтеза под влиянием синего света [Schmidt et al., 2006]. Анализ молекулярных шаперонов (БТШ 70), выявил их значительное накопление при применении светильников с использованием СД одного типа: КСД – на $44\pm 12\%$, ССД – на $49\pm 11\%$ по сравнению с контролем. Вариант К+С имел уровень содержания БТШ 70, близкий к контролю. Это говорит о неспецифичном по отношению к спектральному составу излучения накоплению БТШ 70 в ответ на повышение общего содержания АФК. Экспрессия генов антипатогенных белков PR-1 и PR-8 при действии СД излучения была ниже контроля (однако при использовании КСД уровень экспрессии гена *PR-1* был сравним с контролем), в то же время экспрессия гена *PR-2*, кодирующего один из важнейших антипатогенных белков β -1,3-глюканазу, при освещении КСД превысила контроль в 1,54 раза.

Из представленных данных видно, что освещение растений огурца светом КСД в целом вызывало активацию антиоксидантной системы и тенденцию к активации компонентов антипатогенной защиты. Синий свет приводил к разнонаправленным изменениям в активности и содержании компонентов

защитной системы. В варианте К+С наблюдалась частичная нормализация работы защитной системы.

Результаты, представленные в работе, а также имеющиеся в литературе данные позволили разработать схему, отражающую механизмы действия красного и синего узкополосного света на накопление АФК, структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата и работу защитной системы растения (рисунок 7). Согласно этой схеме, при освещении растения красным и, в меньшей степени, синим светом, происходит изменение редокс-статуса компонентов фотосинтетической ЭТЦ, приводящее к адаптации фотосинтетического аппарата к условиям освещения и накоплению АФК в хлоропластах. Это вызывает накопление в клетке индукторов антипатогенной защиты и активацию антиоксидантной системы. Параллельно данным процессам происходит регуляция содержания фенолов, активности КАТ и роста растения посредством специфических для синего света механизмов. На организменном уровне описанные в схеме процессы приводят к изменению жёсткости листа, высоты растения и формированию устойчивости к патогенам. Более подробно данная схема описана в тексте диссертации.

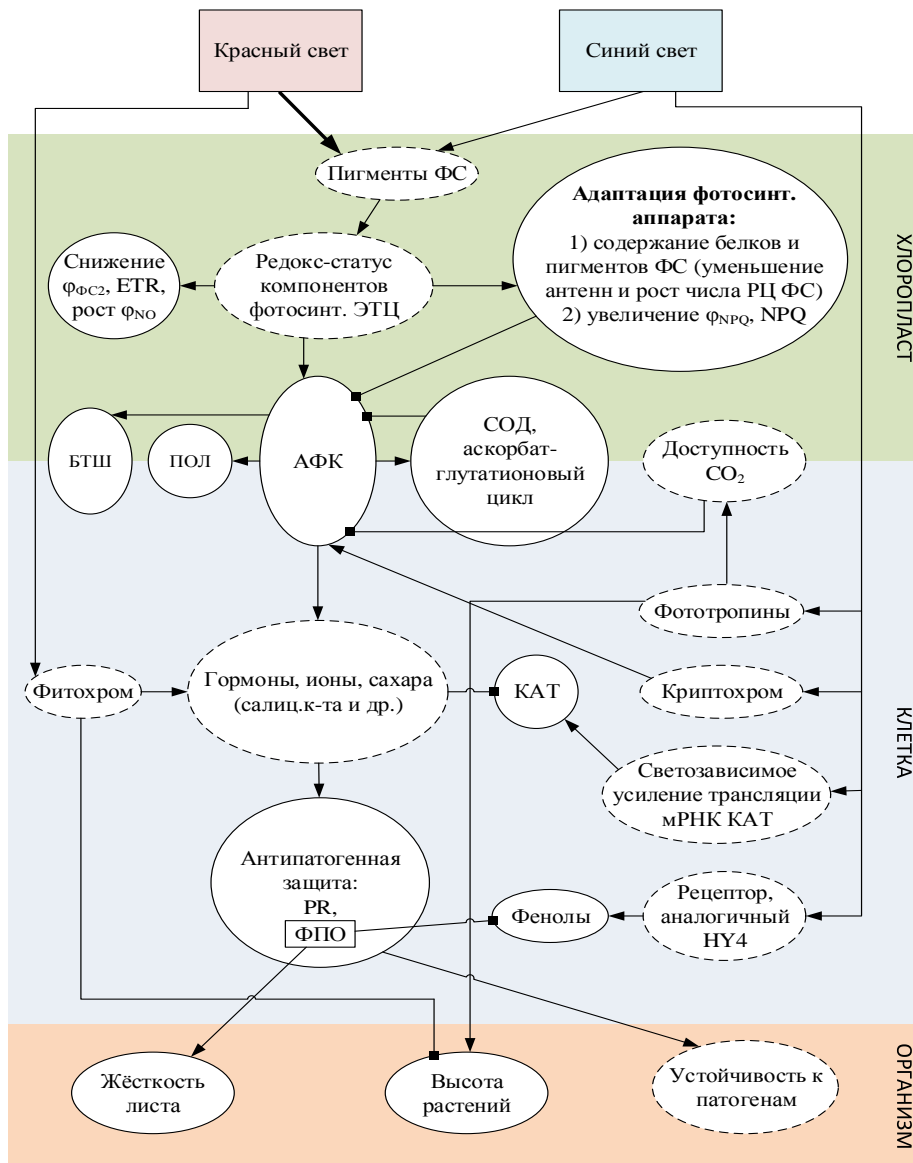
Разработка теоретических основ создания СД осветителей, оптимизированных в соответствии с активностью антиоксидантной системы растения

Мы предположили, что использование дополнительных (к синей и красной) спектральных полос в варианте К+С может полностью восстановить нормальное функционирование защитной системы. Поэтому мы расширили спектр осветителя, используя свет из фотосинтетически активной области (жёлтый и голубой), активно поглощаемый пигментами растения.

Использование осветителя с четырьмя типами СД (далее – оптимизированный СД осветитель, ОСО), излучающих свет в красной (630-650 нм), синей (450-465 нм), жёлтой (590-595 нм) и голубой (465-485 нм) областях спектра в соотношении 3:3:1:1 по энергии излучения соответственно (вариант ОО), показало, что растения огурца, выращиваемые в таких условиях, визуально не отличались от контроля (вариант Б), имели схожие высоту, площадь листьев и массовую долю воды. Общее содержание АФК в варианте ОО также не отличалось от контроля, а содержание H_2O_2 было даже ниже на $32\pm 3\%$.

При использовании ОСО отношение интенсивности флуоресценции ФС1 к ФС2 было близким к контролю. Белковый состав ФС также приближался к контролю. Так, содержание белков внутренней антенны ФС1 (Lhca1, Lhca2, Lhca3 и Lhca4) и белков комплекса ЛНСII достоверно не отличалось от контроля. Содержание белка PsaA ядра ФС1 увеличивалось на $23\pm 6\%$ по сравнению с контролем. Однако содержание белка D1 ядра ФС2 повысилось более значительно (на $30\pm 6\%$), чем в варианте К+С. Повышение содержания D1 и PsaA в варианте

ОО указывают на увеличение числа кор-комплексов ФС, что является частью процесса адаптации фотосинтетического аппарата к повышенной доле света, активно поглощаемого фотосинтетическими пигментами.



РЦ – реакционные центры, линии с квадратом на конце – подавление (ослабление); данные из литературных источников – пунктирная линия [Genoud et al., 2002; Dietzel et al., 2008; Mühlenbock, 2008; Karpiński et al., 2013 и др.]

Рисунок 7. – Схема механизмов действия красного и синего узкополосного света на накопление АФК, структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата и работу защитной системы растения

Анализ компонентов защитной системы показал, что при выращивании растений огурца под ОСО общая активность СОД была схожа с контролем (рисунок 8), в то время как в варианте К+С активность фермента была ниже контроля в 1,28 раз. Активности ферментов аскорбат-глутатионового цикла – АПО и ГР, под ОСО также достоверно не отличались от контроля. Полученные результаты указывают на то, что при использовании осветителя с четырьмя

типами СД не выявлено заметных изменений активности ферментов водно-водного цикла детоксикации АФК. Активность ФПО и КАТ, вместе с АПО и ГР участвующих в детоксикации образующегося при функционировании СОД пероксида водорода, была несколько выше контроля (в 1,49 и 1,32 раз) в варианте ОО. Такие отличия от контроля могут быть вызваны более высокой долей красного и синего света в спектре ОСО по сравнению с белым светом. Заметных различий между вариантом ОО и контролем по уровню экспрессии гена *PR-2* не было обнаружено, однако уровень экспрессии гена *PR-1* в растениях опытного варианта был снижен на $39 \pm 10\%$ относительно белого света.

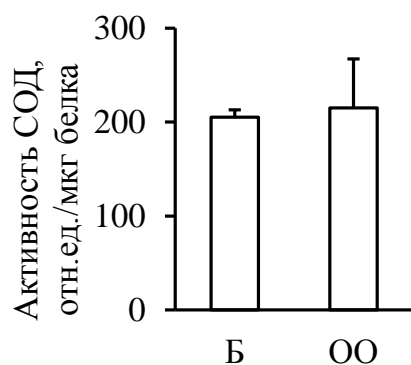


Рисунок 8. – Активность СОД в листьях огурца при использовании ОСО

Таким образом, использование одновременно красных, синих, жёлтых и голубых СД в соотношении 3:3:1:1 по энергии излучения соответственно, позволяет избежать стрессового действия света КСД либо ССД по отдельности, что подтверждается отсутствием окислительного стресса, нормализацией структурно-функциональных параметров фотосинтетического аппарата и эффективным функционированием защитной системы.

Исходя из полученных в работе данных, при разработке новых высокоэффективных источников фотосинтетически активного света для растений, анализ таких параметров как содержание АФК, активность ферментов водно-водного цикла (СОД, АПО, ГР), а также параметров индукции флуоресценции хлорофилла (Φ_{FC2} , Φ_{NPQ} , Φ_{NO} , ETR, NPQ) может быть использован при подборе и оптимизации спектрального состава и интенсивности света, излучаемого источником.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Установлено, что при использовании для освещения светодиодного излучения с одной спектральной полосой в красной (630-650 нм) либо синей (450-465 нм) области в растениях огурца развивается окислительный стресс. На это указывает повышение общего содержания АФК (в 2,2 и 1,7 раза), в том числе и H_2O_2 (в 1,5 и 1,2 раза) в растениях огурца, выращиваемых под светом красных и синих светодиодов, по сравнению с контролем – белым светом люминесцентных ламп. Накопление АФК сопровождается интенсификацией процессов ПОЛ и повышением проницаемости клеточных мембран для свободных нуклеотидов. При совместном применении красных и синих светодиодов (в соотношении 2:1 по энергии излучения) накопление АФК снижается, уменьшается интенсивность процессов ПОЛ. Тем не менее, эти показатели остаются выше контроля на 30-40%. Проницаемость клеточных мембран для свободных нуклеотидов приближается к контрольному значению. Полученные результаты свидетельствуют о том, что

совместное действие красного и синего узкополосного света воспринимается растениями как менее значимый стрессовый фактор, чем действие красного и синего света по отдельности [1, 6, 7, 13].

2. Показано, что при использовании для освещения красных либо синих светодиодов происходит адаптация фотосинтетического аппарата растений огурца к излучению с высокой долей света, активно поглощаемого фотосинтетическими пигментами. При этом снижаются показатели активности ФС2 ($\phi_{\text{ФС2}}$ – квантовый выход фотохимии ФС2 и ETR – показатель интенсивности электронного транспорта), содержание хлорофилла ($a+b$) и каротиноидов. Кроме того, при использовании красных светодиодов усиливается регулируемое нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла (на 75%), происходит уменьшение размера внешней антенны и увеличение числа реакционных центров ФС2. В случае применения синих светодиодов – значительно усиливается регулируемое нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла (на 155%), уменьшается размер внешней антенны и увеличивается число реакционных центров ФС1. При совместном использовании синих и красных светодиодов на фоне незначительного снижения показателей активности ФС2 ($\phi_{\text{ФС2}}$, ETR) наблюдается резкое усиление регулируемого нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (на 168%), уменьшение размера внешних антенн ФС и увеличение числа реакционных центров ФС1, что свидетельствует о более эффективной адаптации фотосинтетического аппарата к такому свету [3, 5, 6, 11, 15, 18].

3. Выявлена активация водно-водного цикла детоксикации АФК, включающего ферменты (СОД, АПО, ГР) и низкомолекулярные антиоксиданты (аскорбат, глутатион), в листьях растений огурца, выращиваемых под светом красных светодиодов. Это подтверждается увеличением активности хлоропластной СОД (на 35%) и интенсификацией работы аскорбат-глутатионового цикла. Кроме того, в таких условиях наблюдается активация компонентов антипатогенной защиты, которая характеризуется высокой активностью ФПО (выше контроля на 95%) и повышенным уровнем экспрессии гена, кодирующего защитный белок PR-2. При освещении растений синими светодиодами, напротив, происходит снижение активности водно-водного цикла детоксикации АФК, а также активности ФПО. В случае применения красных светодиодов показано уменьшение содержания низкомолекулярных антиоксидантов, не участвующих в функционировании водно-водного цикла детоксикации АФК – водорастворимых фенолов и токоферолов (α - и γ -токоферола), а также увеличение их количества при использовании синих светодиодов. Установлено, что в зависимости от типа освещения активность КАТ по сравнению с активностью СОД, АПО и ГР изменяется противоположным образом: понижается в растениях при освещении светом красных светодиодов, и в целом выше контроля под синим светом [2, 4, 5, 8-10].

4. Выявлена частичная нормализация состояния защитной, в том числе антиоксидантной, системы растений огурца при совместном использовании для освещения красных и синих светодиодов, выражающаяся в приближении активности антиоксидантных ферментов (СОД, АПО, ГР, ФПО), содержания молекулярных белков-шаперонов (БТШ70) и уровня экспрессии гена *PR-2* к контрольным значениям по сравнению с использованием красных или синих светодиодов по отдельности. Однако в таких условиях для части изученных показателей активности защитной системы выявлены существенные отличия от контроля: содержание фенолов было выше на 30%, активность КАТ – выше на 36%, уровень экспрессии гена *PR-8* – ниже на 49%, т.е. нормализация состояния защитной системы при таком освещении не является полной, что может быть отчасти обусловлено специфической реакцией на высокую долю красного и синего (повышение активности КАТ и содержания фенолов) света [2, 4, 8-10, 12-14, 16].

5. Установлено, что использование для выращивания растений огурца в качестве источника света одновременно красных, синих, жёлтых (590-595 нм) и голубых (465-485 нм) светодиодов в соотношении 3:3:1:1 по энергии излучения, соответственно, не приводит к накоплению АФК по сравнению с контролем, что обусловлено эффективной адаптацией фотосинтетического аппарата к условиям освещения, которая выражается в увеличении содержания белков реакционных центров ФС2 (на 30%) и ФС1 (на 23%). Показано, что при таком освещении происходит нормализация функционирования защитной системы, в частности, активности СОД, АПО и ГР и уровень экспрессии гена *PR-2* не отличаются от контроля [3, 4, 9, 10, 13, 17].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Полученные результаты могут быть использованы в качестве методической основы для создания энергосберегающих светодиодных светильников, оптимизированных для выращивания сельскохозяйственных культур, в частности, растений огурца в закрытом грунте.

2. На основе результатов исследования разработаны светодиодные источники фотосинтетически активного света для выращивания водорослей (акты аттестации № 45-2013 от 13.12.2013 и № 12-2014 от 11.09.2014), которые внедрены в опытно-промышленное производство суспензии хлореллы (РУП «Опытная научная станция по птицеводству», г. Заславль), используемой в качестве кормовой добавки в птицеводстве (акты внедрения от 16.12.2013 и от 09.10.2014).

3. Разработка «Светодиодное освещение как индуктор накопления фенолов в растениях» используются в учебном процессе на кафедре общей биологии и ботаники факультета естествознания Белорусского государственного педагогического университета им. М. Танка при чтении лекций по учебной дисциплине «Физиология растений» (акт внедрения от 18.02.2015).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых изданиях

1. Вязов, Е. В. Содержание активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления липидов и проницаемость клеточных мембран в растениях огурца (*Cucumis sativus*) в условиях узкополосного освещения / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2013. – №2. – С. 71-74.
2. Вязов, Е. В. Активность аскорбат-глутатионового цикла в растениях огурца (*Cucumis sativus*) в условиях светодиодного освещения / Е. В. Вязов, Н. В. Козел, В. П. Доманский, Н. В. Шалыго // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – №1. – С. 78-83.
3. Вязов, Е. В. Изменение спектральных характеристик листьев огурца при адаптации фотосинтетического аппарата к светодиодному освещению / Е. В. Вязов, Н. В. Козел, В. П. Доманский, Н. В. Шалыго // Журнал прикладной спектроскопии. – 2014. – № 6. – С.929-935.
4. Вязов, Е. В. Влияние спектрального состава светодиодного излучения на активность антиоксидантных ферментов и накопление защитных белков в растениях огурца (*Cucumis sativus* L.) / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Доклады Нац. акад. наук Беларуси. – 2015. – Т. 59, № 2. – С. 87-92.
5. Вязов, Е.В. Активность фотосинтетического аппарата и защитная система растений огурца (*Cucumis sativus* L.) при узкополосном освещении различного спектрального состава. / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2016. – №4. – С. 19-26.

Статьи в материалах конференций

6. Вязов, Е. В. Влияние узкополосного освещения на морфометрические показатели и содержание фотосинтетических пигментов в растениях огурца / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. науч. конф. и X съезда БООФиБ, Минск, 19-21 июня 2012 г. : в 2 ч. – Мн.: «Издательский центр БГУ», 2012. – Ч. 2. – С. 98-101.
7. Вязов, Е. В. Влияние светодиодного освещения на окислительные процессы в растениях огурца / Е. В. Вязов // Научные, прикладные и образовательные аспекты физиологии, генетики и биотехнологии растений и микроорганизмов : материалы XII межд. науч. конф. молодых учёных, Киев, 15-16 нояб. 2012 г. – Киев, 2012. – С. 40-41.
8. Вязов, Е. В. Содержание фенолов в растениях огурца (*Cucumis sativus*) в условиях узкополосного освещения / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине : материалы междунар. науч.-практ. конф., Новосибирск, 1-4 октяб. 2013 г. : в 2 ч. – Новосибирск, 2013. – Ч.1. – С. 50-52.
9. Вязов, Е. В. Активность антиоксидантных ферментов в растениях огурца (*Cucumis sativus* L.) при освещении светодиодами / Е. В. Вязов, Н. В. Козел // Современные тенденции в сельском хозяйстве : материалы II-ой междунар. интернет-конф., Казань, 10-11 октяб. 2013 г. – Казань, 2013. – С. 31-33.
10. Вязов, Е. В. Динамика активности антиоксидантных ферментов в листьях

огурца в условиях светодиодного освещения / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. науч. конф. и XI съезда БООФиБ, Минск, 17-20 июня 2014 г. : в 2 ч. – Мн.: «Издательский центр БГУ», 2014. – Ч. 2. – С. 95-97.

11. Вязов, Е. В. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях огурца при освещении красными и синими светодиодами / Е. В. Вязов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. науч. конф. и XI съезда БООФиБ, Минск, 17-20 июня 2014 г. : в 2 ч. – Мн.: «Издательский центр БГУ», 2014. – Ч. 2. – С. 20-22.

12. Вязов, Е. В. Экспрессия генов PR-белков в растении огурца при освещении узкополосными источниками света (светодиодами) / Е. В. Вязов // Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий : материалы междунар. науч. конф. и школы молодых учёных, Калининград, 19-25 мая 2014 г. : в 2 ч. – Калининград: Аксиос, 2014. – Ч. 2. – С. 116-118.

13. Вязов, Е. В. Влияние светодиодного излучения на морфометрические показатели и экспрессию генов PR-белков в растениях огурца (*Cucumis sativus* L.) / Е. В. Вязов // Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений : материалы всероссийской науч. конф. с междунар. участием, Москва, 23-27 нояб. 2015 г. – Москва: ИФР РАН, 2015. – С. 824-828.

14. Вязов, Е. В. Влияние светодиодного освещения разного спектрального состава на содержание фенолов и общую антиоксидантную активность в листьях огурца (*Cucumis sativus* L.) / Е. В. Вязов // Современные проблемы биохимии : сб. науч. ст., Гродно, 5-6 июля 2016 г. / ред. кол.: Л. И. Надольник [и др.]. – Гродно: ЮрСаПринт, 2016. – С. 137-141.

15. Вязов, Е. В. Адаптация фотосинтетического аппарата растений огурца при использовании узкополосного освещения / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы междунар. науч. конф. и XII съезда БООФиБ, Минск, 28-30 июня 2016 г. : в 2 ч. – Мн.: «Издательский центр БГУ», 2016. – Ч. 2. – С. 24-27.

Тезисы докладов

16. Viazau, Y. V. Phenols content and phenolic peroxidase activity in cucumber plants under LED lighting / Y. V. Viazau, N. V. Shalygo // Abstracts of International Symposium “Secondary metabolites: chemistry, biology and biotechnology”, Moscow, 19-23 may 2014. – International Journal of Secondary Metabolite. – 2014. – Vol. 1, № 1 – P. 30.

17. Вязов, Е. В. Накопление активных форм кислорода и антиоксидантная активность в листьях огурца при освещении светодиодами / Е. В. Вязов // Современные проблемы биохимии : материалы конф. молодых учёных-биохимиков с междунар. участием, посвящённой 90-летию со дня рождения Ю. М. Островского, Гродно, 29 июня 2015 г. – Гродно: ГрГМУ, 2015. – С. 20-22.

18. Вязов, Е. В. Нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла в листьях огурца при освещении красными и синими светодиодами / Е. В. Вязов // Современные проблемы биохимии и молекулярной биологии : материалы III конф. молодых учёных биохимиков и молекулярных биологов с междунар. участием, Гродно, 11-12 мая 2017 г. – Гродно: ЮрСаПринт, 2017. – С. 37-40.

РЭЗІЮМЭ

ВЯЗАЎ Яўген Віктаравіч

Механізмы адаптацыі фотасінтэтычнага апарата і ахоўнай сістэмы раслін агурка да святлодыёднага выпраменьвання рознага спектральнага складу

Ключавыя словы: расліны агурка, святлодыёды, механізмы адаптацыі, АФК, антыаксіданты, ахоўная сістэма, фотасінтэтычны апарат.

Мэта працы: выявіць механізмы адаптацыі фотасінтэтычнага апарата і ахоўнай сістэмы раслін агурка, уключаючы антыаксідантную сістэму, да святлодыёднага выпраменьвання рознага спектральнага складу.

Метады даследавання і выкарыстаная апаратура: біяфізічныя, малекулярна-біялагічныя, біяхімічныя метады, якія ўключаюць храматаграфію, флуарыметрыю, спектрафотаметрыю, гель-электрафарэз, ПЛР-аналіз, імунаблотынг; спектрафотометр «Uvikon-931» (Германія), спектрафлуарыметр «Solar CM 2203» (Беларусь), храматограф «Shimadzu LC 20 Prominence» (Японія), ампліфікатар «MJ Mini Cycler» (ЗША).

Атрыманыя вынікі і іх навізна: паказана, што выпраменьванне чырвоных і, у меншай ступені, сініх святлодыёдаў ўспрымаецца раслінным арганізмам як стрэсавы фактар і выклікае назапашванне АФК, што прыводзіць да інтэнсіфікацыі перакіснага акіслення ліпідаў і суправаджаецца зніжэннем актыўнасці ФС2. У такіх умовах адбываецца адаптацыя фотасінтэтычнага апарата да лішку святла, якое актыўна паглынаецца фотасінтэтычнымі пігментамі. Такая адаптацыя атрымліваецца больш паспяховай ў выпадку камбінаванага асвятлення. Паказана актывацыя водна-воднага цыкла і тэндэнцыя да актывацыі антыпатагеннай аховы ў лісцях агурка пры выкарыстанні чырвоных, але не сініх святлодыёдаў, якая, верагодна, першапачаткова выклікана генерацыяй АФК ў хларапластах. Устаноўлена, што прымяненне чырвоных і сініх святлодыёдаў сумесна дазваляе атрымаць частковую нармалізацыю, а даданне жоўтых і блакітных святлодыёдаў – практычна поўную нармалізацыю актыўнасці ахоўнай сістэмы раслін агурка на фоне высокай эфектыўнасці адаптацыі фотасінтэтычнага апарата да ўмоў асвятлення.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вынікі могуць быць выкарыстаны пры стварэнні энергазберагальных свяцільнікаў, аптымізаваных для вырошчвання сельскагаспадарчых культур у закрытым грунце. Атрыманы акты аб практычным выкарыстанні вынікаў у вытворчасці і ў навучальным працэсе.

Вобласць ужывання: біяфізіка, фізіялогія і біяхімія раслін.

РЕЗЮМЕ

ВЯЗОВ Евгений Викторович

Механизмы адаптации фотосинтетического аппарата и защитной системы растений огурца к светодиодному излучению различного спектрального состава

Ключевые слова: растения огурца, светодиоды, механизмы адаптации, АФК, антиоксиданты, защитная система, фотосинтетический аппарат.

Цель работы: выявить механизмы адаптации фотосинтетического аппарата и защитной системы растения огурца, включая антиоксидантную систему, к светодиодному излучению различного спектрального состава.

Методы исследования и использованная аппаратура: биофизические, молекулярно-биологические, биохимические методы, включающие хроматографию, флуориметрию, спектрофотометрию, гель-электрофорез, ПЦР-анализ, иммуноблоттинг; спектрофотометр «Uvikon-931» (Германия), спектрофлуориметр «Solar CM 2203» (Беларусь), хроматограф «Shimadzu LC 20 Prominence» (Япония), амплификатор «MJ Mini Cyclor» (США).

Полученные результаты и их новизна: показано, что излучение красных и, в меньшей степени, синих светодиодов воспринимается растительным организмом как стрессовый фактор и вызывает накопление АФК, что приводит к интенсификации ПОЛ и сопровождается снижением активности ФС2. В таких условиях происходит адаптация фотосинтетического аппарата к избытку активно поглощаемого фотосинтетическими пигментами света, которая оказывается более успешна в случае комбинированного освещения. Показана активация водно-водного цикла и тенденция к активации компонентов антипатогенной защиты в листьях огурца при использовании красных, но не синих светодиодов, по-видимому, изначально вызванная генерацией АФК в хлоропластах. Установлено, что применение красных и синих светодиодов совместно позволяет добиться частичной нормализации, а добавление жёлтых и голубых светодиодов – практически полной нормализации активности защитной системы растений огурца на фоне высокой эффективности адаптации фотосинтетического аппарата к условиям освещения.

Рекомендации по использованию: результаты могут быть использованы при создании энергосберегающих светильников, оптимизированных для выращивания сельскохозяйственных культур в закрытом грунте. Получены акты о практическом использовании результатов в производстве и в учебном процессе.

Область применения: биофизика, физиология и биохимия растений.

SUMMARY

VIAZAU Yauhen Viktaravich

Mechanisms of adaptation of photosynthetic apparatus and defense system of cucumber plants to LED radiation of various spectral compositions

Keywords: cucumber plants, LEDs, adaptation mechanisms, ROS, antioxidants, defense system, photosynthetic apparatus.

Objective: to identify the mechanisms of adaptation of the photosynthetic apparatus and the defense system of cucumber plants, including the antioxidant system, to LED radiation of various spectral compositions.

Research methods and equipment used: biophysical, molecular biological, biochemical methods, including chromatography, fluorometry, spectrophotometry, gel electrophoresis, PCR-analysis, immunoblotting; «Uvikon-931» spectrophotometer (Germany), «Solar SM 2203» spectrofluorometer (Belarus), «Shimadzu LC 20 Prominence» chromatograph (Japan), «MJ Mini Cycler» thermal cycler (USA).

The results and their novelty: it is shown that radiation emitted by red and blue LEDs is perceived by the plant organism as a stress factor and causes accumulation of ROS. This leads to intensification of lipid peroxidation and is accompanied by a decrease in the activity of PS2. Under such conditions, photosynthetic apparatus undergoes the adaptation to the excess of red and blue light which is actively absorbed by the photosynthetic pigments. Such adaptation is more successful in the case of combined lighting. Activation of the water-water cycle and the tendency to activate antipathogenic defense in the leaves of the cucumber illuminated with red but not blue LEDs appear to have been originally caused by the generation of ROS in chloroplasts. Combined lighting with both red and blue LEDs causes partial normalization, and the addition of yellow and blue LEDs – almost complete normalization of the activity of the defense system of cucumber plants while adaptation of photosynthetic apparatus to lighting conditions is being highly efficient.

Recommendations for practical utilization: the results can be applied in construction of energy-efficient illuminators optimized for growing of agricultural plants in greenhouses. Acts on the practical use of the results in production and in the education are obtained.

Application area: biophysics, plant physiology and plant biochemistry.

Подписано в печать 24.11.2017 Формат 60x84_{1/16} Бумага офсетная
Гарнитура Roman Печать цифровая Усл.печ.л. 1,3 Уч.изд.л. 1,4
Тираж 60 экз. Заказ № 2510
ИООО «Право и экономика» 220072 Минск Сурганова 1, корп. 2
Тел. 284 18 66, 8 029 684 18 66
E-mail: pravo-v@tut.by; pravo642@gmail.com Отпечатано на издательской системе
KONICA MINOLTA в ИООО «Право и экономика»
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий, выданное
Министерством информации Республики Беларусь 17 февраля 2014 г.
в качестве издателя печатных изданий за № 1/185