

КАК СВЕТ РЕГУЛИРУЕТ ЖИЗНЬ РАСТЕНИЙ

О. Н. КУЛАЕВА

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

HOW LIGHT REGULATES LIFE OF PLANTS

O. N. KULAEVA

The phytochrome system of plant, the processes controlled thereby, phytochrome genes and regulation of their expression are described. The role which phytochrome plays in the behavior of plants in the natural environment is discussed.

Рассмотрены фитохромная система растений, процессы, которые она контролирует, гены фитохрома и регуляция их экспрессии. Обсуждается роль фитохрома в поведении растений в природных условиях.

www.issep.rssi.ru

ВВЕДЕНИЕ

Все знают, что свет необходим растению для фотосинтеза [1], но менее известно, что красный, синий и ультрафиолетовый свет играет важную роль в регуляции роста и формообразования растений. Регуляция жизни растений красным светом осуществляется фоторецептором, называемым фитохромом (от *phyton* — растение и *chroma* — цвет, окраска) [2, 3]. Фитохромная система позволяет растению реагировать на качество, интенсивность и продолжительность освещения изменением ростовых и формообразовательных процессов, которые принято называть фотоморфогенезом [4]. Фотоморфогенез играет огромную приспособительную роль, синхронизируя рост растений, цветение, клубнеобразование, переход почек в состояние покоя и многие другие процессы в жизни растений с суточными и сезонными изменениями спектра солнечного света. Фитохром улавливает изменения в соотношении красного (К) и дальнего красного (ДК) света, возникающие под пологом листьев и позволяет светолюбивому растению уйти из тени. Фитохром крайне важен для оптимизации растением своей структуры, обеспечивающей максимальное использование света в фотосинтезе.

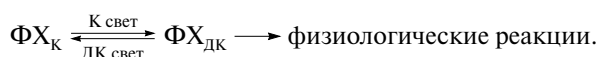
Интерес к фитохрому в мировой науке неуклонно растет. Регуляторные системы, с помощью которых фитохром контролирует фотоморфогенез, изучают не только физиологи и биофизики растений, но и генетики и молекулярные биологи. Именно их подходы обеспечили большой прогресс, достигнутый в последние годы в исследовании фитохромной системы растений. Молекулярный механизм действия фитохромной системы еще не раскрыт до конца, но каждый месяц в мировой научной литературе появляются сообщения, приближающие нас к пониманию этого важнейшего явления в жизни растений. Физиологические процессы, контролируемые фитохромом, и его значение в жизни растений рассмотрены в данной статье.

ОТКРЫТИЕ ФОТОМОРФОГЕНЕЗА

Первые сведения о фотоморфогенезе были получены в 20-е годы ушедшего столетия в опытах по регуляции длиной дня цветения у некоторых растений. Информация о

регуляции ростовых процессов у растений под действием красного света появилась в 30-е годы. Однако основные работы, приведшие к открытию регуляции роста растений с помощью красного света через фитохромную систему, были выполнены в 50-е годы американскими исследователями Х. Бортвиком (Н. Bortwick) и С. Хендриком (S. Hendriks), которые показали, что красный свет (максимальная эффективность при 660 нм) стимулировал прорастание семян салата-латука, а дальний красный свет с максимумом при 730 нм ингибировал процесс. Авторы установили, что если набухшие семена салата освещать красным (К) светом и потом дальним красным (ДК) светом, то ДК свет уничтожает стимулирующее влияние К света, однако оно восстанавливается при повторном действии К света. Авторы убедились, что семена реагируют на последнее облучение. Они повторяли чередование К и ДК света до 100 раз, и реакция семян на освещение подчинялась той же зависимости (рис. 1).

Так было открыто обратимое, противоположное по своим результатам действие на растение красного и дальнего красного света. Бортвик и Хендрик предположили, что в растениях есть фоторецептор, существующий в двух формах, превращающихся друг в друга под действием света разного качества (К и ДК). Этот гипотетический фоторецептор был назван фитохромом (ФХ). Авторы предположили, что одна его форма, ФХ_к, воспринимает К свет и превращается в другую форму, ФХ_{дк}. ФХ_{дк} представляет собой физиологически активную форму, которая возбуждает активацию процессов, вызываемых К светом. Под действием ДК света рецептор возвращается в состояние ФХ_к и благодаря этому реакция прекращается:



Это было гениальное предвидение, позже подтвержденное экспериментально. В. Батлер (W.L. Butler) с со-

Свет	Процент проросших семян
К	70
К → ДК	6
К → ДК → К	74
К → ДК → К → ДК	6
К → ДК → К → ДК → К	76
К → ДК → К → ДК → К → ДК	7
К → ДК → К → ДК → К → ДК → К	81

Рис. 1. Влияние красного (К) и дальнего красного света (ДК) на прорастание семян салата [4]

трудниками получил из этиолированных (выращенных в темноте) проростков овса фитохром, раствор которого имел тот же спектр поглощения света, как и реакции растений в фотоморфогенезе (рис. 2, А) (максимум при 660 нм для ФХ_к и при 730 нм для ФХ_{дк}). Свет вызывал взаимные переходы двух форм фитохрома, которые были предсказаны Бортвиком и Хендриком.

СВОЙСТВА ФИТОХРОМА

Хотя первые сообщения о выделении фитохрома появились раньше, полностью очищенный нативный фитохром был выделен из этиолированных проростков овса только в 80-е годы. Фитохром представляет собой белок (апопротеин), к которому присоединен поглощающий свет пигмент. Молекулярная масса белка фитохрома равна 250 кД. Он состоит из двух одинаковых субъединиц (125 кД), соединенных дисульфидным мостиком. К каждой из субъединиц ковалентно присоединена через тиоэфирную связь одна молекула поглощающего свет пигмента – хромофора, который представляет собой тетрапиррол и называется фитохромобилином (рис. 2, Б).

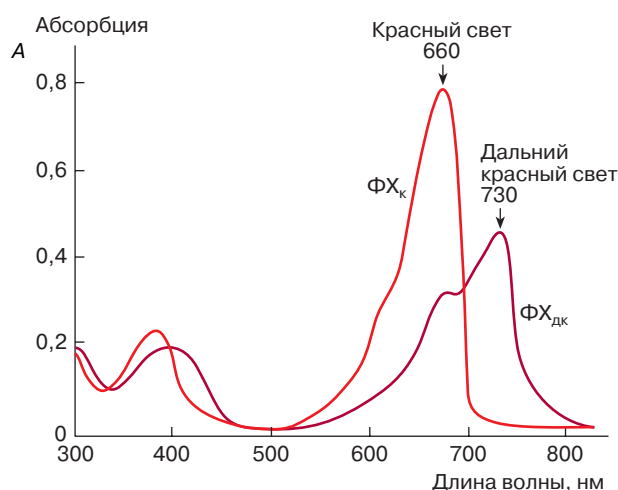


Рис. 2. А – спектры поглощения света раствором фитохрома в форме ФХ_к и ФХ_{дк}; Б – формула хромофора фитохрома – тетрапиррола, называемого фитохромобилином

В результате поглощения красного света хромофор в составе фитохрома ФХ_k претерпевает *цис-транс*-изомеризацию за счет вращения молекулы относительно двойной связи между 15-м и 16-м углеродом тетрапиррола. В результате хромофор ФХ_k формы фитохрома превращается в хромофор ФХ_{dk} формы. Изменения в хромофоре передаются белку и приводят к изменению его конформации, которые далее возбуждают в клетке цепь сигналов, приводящих к фотоморфогенезу или иным изменениям в жизни растений. Под действием ДК света молекула ФХ_{dk} формы превращается в ФХ_k .

Различия в конформации ФХ_k и ФХ_{dk} настолько велики, что их выявляют антитела и ферменты, действующие на фитохром. Например, ФХ_{dk} фитохрома А гораздо чувствительнее к протеазам, чем ФХ_k .

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, РЕГУЛИРУЕМЫЕ В РАСТЕНИЯХ СВЕТОМ С ПОМОЩЬЮ ФИТОХРОМНОЙ СИСТЕМЫ

Фитохром присутствует и участвует в регуляции светом физиологических процессов у зеленых водорослей, мхов, папоротников, голосеменных и покрытосеменных растений, включая одно- и двудольные. В последнее время аналог фитохрома обнаружен также у цианобактерий.

Как упоминалось, фитохромная регуляция была открыта на примере индукции красным светом прорастания семян и подавления этого процесса дальним красным светом. Такая регуляция прорастания семян характерна для видов с мелкими семенами. Она имеет важное приспособительное значение, так как у мелких семян нет достаточного запаса питательных веществ, чтобы обеспечить рост проростка в темноте при прохождении им толщи земли с большой глубины до поверхности. Поэтому мелкие семена прорастают только под действием воспринимаемого фитохромом красного света, пропускаемого тонким слоем земли. Увеличение этого слоя приводит к обогащению спектра дальним красным светом, который также через фитохромную систему подавляет прорастание семян. У видов растений с крупными семенами, содержащими достаточный запас питательных веществ, для индукции прорастания даже с глубины в 5–10 см света не требуется.

Другой важный этап в жизни растений, контролируемый фитохромом, состоит в переходе проростка от роста в темноте (в почве) к росту на свету над поверхностью земли. Этот этап называется деэтиоляцией. Этиолированные проростки резко отличаются по своей морфологии от проростков, растущих на свету. На стадии роста в темноте в земле стратегия выживания растения направлена на то, чтобы мобилизовать все запасы питательных веществ для скорейшего выхода проростка на

поверхность земли, когда начнется питание растения за счет фотосинтеза. Этой стратегии подчинена морфология этиолированных проростков. Для них характерен длинный, тонкий, быстрорастущий стебель, облегчающий скорейшее достижение поверхности земли. Этиолированные проростки лишены сформированных, развернутых листьев, которые мешали бы им пробиваться сквозь землю. Листья находятся в зачаточном состоянии и свернуты. В темноте не синтезируется хлорофилл, поэтому этиолированные проростки белые. Растущая верхушка стебля загнута крючком, что защищает зону клеточных делений (меристему) от повреждения при прохождении стебля сквозь почву (рис. 3, А). Типичным примером этиолированных растений являются выросшие в темноте ростки картофеля. Свет, а именно красная часть спектра, улавливаемая ФХ_k , вызывает немедленные морфологические изменения в росте этиолированных проростков: удлинение стебля тормозится, стебель утолщается, распрямляется крючок на его верхушке, разворачиваются и начинают расти и зеленеть листья, в них развиваются хлоропласты — органеллы, в которых осуществляется фотосинтез, и растение переходит к самостоятельному питанию за счет фотосинтеза (см. рис. 3, А).

Проводя опыты в лабораторных условиях, легко показать, что деэтиоляцию вызывает красный свет, воспринимаемый ФХ_k , а дальний красный свет, поглощаемый ФХ_{dk} , ингибирует этот процесс. В природных условиях дело обстоит сложнее, так как проросток, выйдя на поверхность земли, оказывается под действием белого света, который содержит и красный и дальний красный свет, но в зависимости от времени дня и освещенности соотношение красного и дальнего красного света в спектре белого света изменяется. Кроме того, растение содержит разные типы фитохрома, участвующие в интегральном ответе растения на белый свет. Фитохромная система улавливает изменения в соотношении К/ДК свет, и это имеет огромное приспособительное значение.

Важную приспособительную роль фитохромная система играет в реакции растений на затенение. Полог, образуемый листвой других растений, не только снижает интенсивность света, но и приводит к изменению его спектрального состава. Листья растений благодаря спектральным свойствам хлорофилла в большей мере поглощают красный свет, и в результате свет, достигающий растения под пологом листвы, характеризуется соотношением красный/дальний красный свет, сдвинутым в сторону дальнего красного света. Дальний красный свет, воспринимаемый ФХ_{dk} , вызывает эффект, противоположный деэтиоляции, — он активирует вытягивание стебля, ускоряя его рост (рис. 3, Б). Это дает растению шанс подняться над затеняющими его

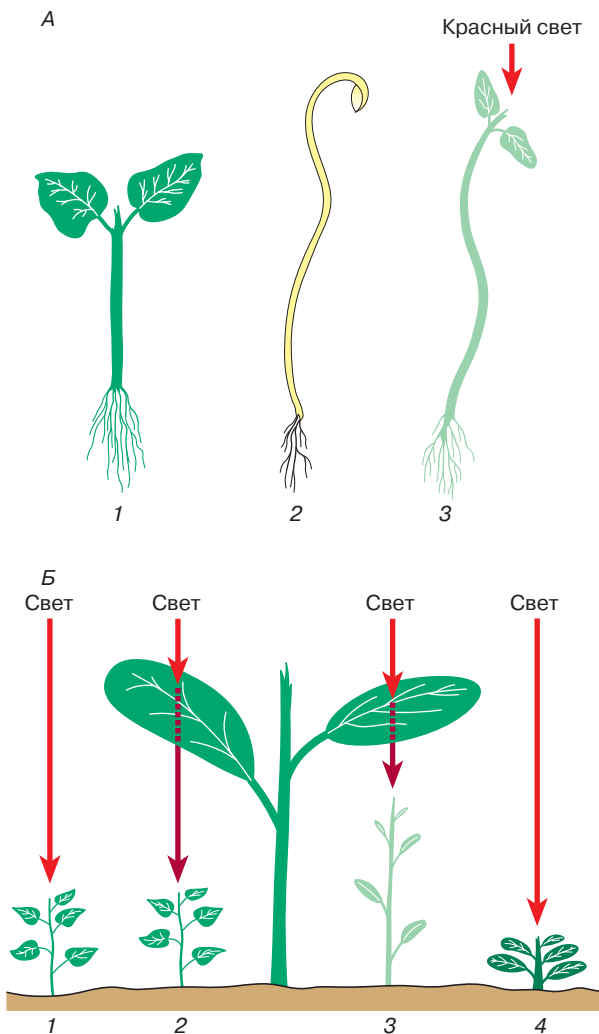


Рис. 3. А – переход роста проростка фасоли в темноте к росту на свету (диэтиоляция): 1 – зеленый проросток на свету, 2 – этиолированный проросток в темноте, 3 – проросток после 2 мин освещения красным светом; Б – эффект активации роста стебля затенением: 1 – теневыносливое растение на открытом месте, 2 – теневыносливое растение в тени, 3 – светолюбивое растение в тени (видно вытягивание стебля под действием дальнего красного света), 4 – светолюбивое растение на открытом месте

соседями и перейти к активному фотосинтезу. Такая активация роста растений в тени – теневой эффект свойствен светолюбивым растениям и контролируется фитохромом. Теневыносливые растения не обладают реакцией активации роста в ответ на затенение (см. рис. 3, Б). Фитохромная система позволяет растению уловить особенности спектрального состава света, отраженного от других растений, – “узнать о наличии соседа” и изменить направление роста, уклоняясь от его

близости. Появление в лесу прогалин (порубки) вызывает изменение в соотношении К/ДК свет в сторону красного света, и это активирует прорастание семян древесных пород, находящихся на поверхности почвы. В результате зарастают прогалины.

Через фитохром происходят активация экспрессии генов хлоропластных белков и стимуляция дифференцировки хлоропластов. Фитохрому принадлежит важная роль в регуляции деления хлоропластов и формирования фотосинтетического аппарата растений. Фитохромная система участвует в регуляции цветения. Как известно, многие растения “измеряют” длину дня и зацветают в условиях длинного дня – длиннодневные растения или в условиях короткого дня – короткодневные растения. В этом состоит важное приспособление растений к условиям существования. Длиннодневные растения – это растения северных широт. Для них важно перейти к цветению после весенних заморозков. Отбор шел по наиболее стабильному признаку – длине дня, и они приспособились зацветать только в период наступления длинных дней, обеспечивающих нормальное цветение и плодоношение. Короткодневные растения – растения южных широт с неблагоприятными условиями цветения в летний период, связанный с засухой или ливневыми дождями. Для них важно было избежать этот период, зацвести и дать плоды до или после наступления длинных летних дней, в период коротких дней. Фитохромная система участвует в измерении растением длины дня и ночи. Это демонстрирует схема, представленная на рис. 4: в условиях длинного дня (рис. 4, А) длиннодневные растения цветут, а короткодневные нет. В условиях короткого дня, наоборот, короткодневные растения цветут, а длиннодневные нет (рис. 4, Б). Однако минутное прерывание темного периода красным светом подавляет цветение короткодневных растений и вызывает цветение длиннодневных растений (рис. 4, В). Это действие красного света снимается, если вслед за красным светом следует освещение дальним красным светом. Таким образом, обратимые изменения фитохрома участвуют в регуляции цветения растений. Это было показано исследованиями Х. Бортвика и М. Паркера (М. Parker). Крупный вклад в изучение фотопериодической регуляции цветения растений внесли российский ученый М.Х. Чайлахян [5] и уроженец из России, работавший в США, А.Г. Ланг, доказавшие участие фитогормонов в регуляции цветения растений длиной дня. У длиннодневных растений цветение вызывает гормон гиббереллин. В последнее время выяснено, что экспрессия двух генов, кодирующих два фермента биосинтеза гиббереллинов, находится под фотопериодическим контролем и включается в

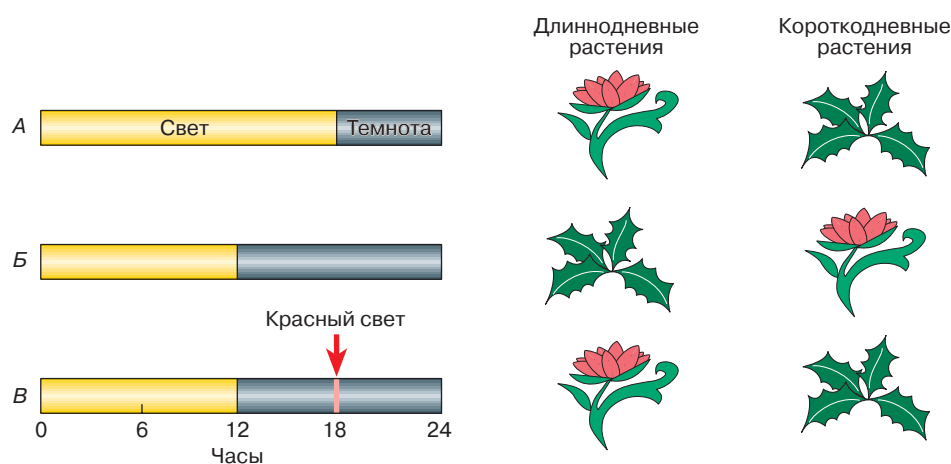


Рис. 4. Влияние минутного освещения красным светом на цветение длинно- и короткодневных растений (по [4]): А – условия длинного дня, Б – условия короткого дня, В – прерывание темного периода минутным освещением красным светом

условиях длинного дня через фитохромную систему. Фитохромная система участвует в так называемых суточных ритмах различных процессов у растений.

Среди реакций, контролируемых фитохромом, следует указать вращательные движения единственного в клетке зеленой водоросли *Mougeotia* хлоропласта, который, вращаясь относительно длинной оси, поворачивается под действием красного света перпендикулярно к его направлению. Эффект обратим под действием дальнего красного света. Эти опыты позволили установить строгую ориентированность молекул фитохрома в клетке *Mougeotia* и изменение этой ориентации на 90° при превращении ΦX_K в ΦX_{DK} .

К другим реакциям растений, вызываемым светом через фитохромную систему, относятся формирование листовых зачатков и рост листьев, закладка корней, клубнеобразование, контроль покоя почек, индукция биосинтеза пигментов антоцианов, окрашивающих растительные ткани в красно-фиолетовый цвет и предотвращающих повреждение растений ультрафиолетовыми лучами.

Важно подчеркнуть, что эффекты, возбуждаемые красным светом через фитохром, могут проявляться через минуты, как, например, в случае вращения хлоропласта в клетке водоросли *Mougeotia*, или через недели, как это может быть при индукции цветения. Существенно также, что обращение действия красного света под влиянием дальнего красного возможно лишь в течение определенного срока после освещения красным светом. По прошествии этого срока эффект становится необратимым, а продолжительность периода, когда действие красного света может быть заблокировано дальним красным светом, неодинакова для раз-

ных ответов и может варьировать от минут до часов. Кроме того, эта обратимость отсутствует у реакций, вызываемых кратковременным действием света очень низкой интенсивности. Обратимость отсутствует также у некоторых высокоэнергетических реакций, идущих через фитохром. Эффекты, вызываемые через фитохромную систему, существенно различаются по их потребности в интенсивности света, и их принято классифицировать с учетом этого параметра. Как стало известно в последнее время, различные реакции растений на свет проявляются через разные фитохромы, кодируемые разными генами [6]. Все это определяет достаточно сложную организацию фитохромной системы растений.

БИОСИНТЕЗ ФИТОХРОМА

Гены фитохромов находятся в ядерной ДНК. Поэтому экспрессия генов происходит в ядре, а синтез белков фитохромов (апопротеинов) происходит на цитоплазматических рибосомах. Фитохромобилин – хромофор фитохрома синтезируется в пластидах, а потом поступает в цитоплазму (рис. 5, А). В цитоплазме происходит ковалентное присоединение хромофора к белку фитохрома. Присоединение хромофора к апопротеину с образованием функционально активной молекулы фитохрома, состоящей из двух одинаковых субъединиц, к каждой из которых присоединено по одной молекуле хромофора, происходит автокаталитически в цитоплазме и не требует дополнительных кофакторов. Эта реакция может произойти не только в клетке, но и в пробирке, в растворе, в котором присутствуют белок фитохрома и хромофор.

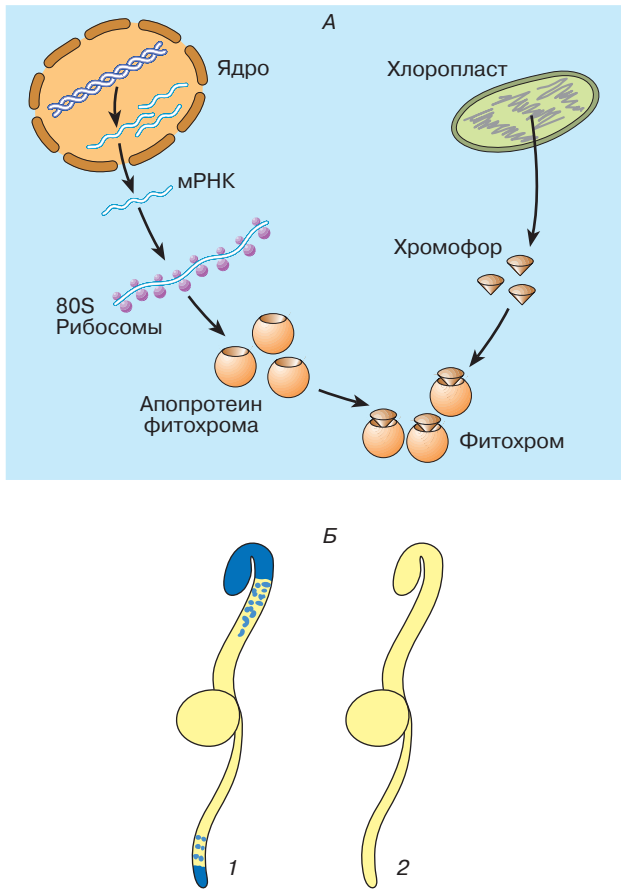


Рис. 5. А – биосинтез фитохрома в клетке; Б – экспрессия гена β -глюкуронидазы под промотором гена фитохрома А (ФХА) в этиолированном проростке гороха. Синий цвет показывает присутствие в тканях растений β -глюкуронидазы: 1 – трансформированное растение, 2 – контрольное растение

СЕМЕЙСТВО ФИТОХРОМОВ И КОДИРУЮЩИЕ ИХ ГЕНЫ

К настоящему времени выделены гены, кодирующие фитохром как у однодольных, так и у двудольных растений. У *Arabidopsis thaliana*, растения с относительно малым размером генома (всего 120 млн пар оснований, геном полностью секвенирован в прошлом году), ДНК которого содержится в пяти парах хромосом, обнаружено семейство генов фитохрома, индивидуальные представители которого названы *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* и *PHYE*. У томатов обнаружено семь генов фитохрома. Из-за малого размера генома, короткого жизненного цикла, малых размеров растения и огромного количества семян, которые оно дает, арабидопсис является излюбленным объектом для работы генетиков. На этом растении получено огромное количество му-

тантов, в том числе мутанты, лишённые фитохрома А (мутант *hy8*) или фитохрома В (мутант *hy3*). Исследование этих мутантов выявило различия в функциональной роли фитохромов А и В [6]. Следует упомянуть, что анализ апопротеинов фитохромов А и В выявил различие в структуре N-конца их молекул, которые и определяют их функциональные особенности.

Большой прогресс в понимании, где и с какой интенсивностью экспрессируются гены различных фитохромов, был достигнут с помощью трансформированных растений. Опыты с трансформированными растениями, в геном которых введена генетическая конструкция, содержащая репортерный ген, например ген β -глюкуронидазы под контролем промотора (регулятора экспрессии гена) фитохрома, позволили выяснить, где в растении экспрессируются гены фитохрома. Промотор растительного гена включает репортерный ген в соответствии с особенностями экспрессии своего гена, а ген β -глюкуронидазы (*GUS*) потому и репортерный, что помогает узнать, где происходит его экспрессия под промотором исследуемого гена. Репортерная роль β -глюкуронидазы связана с тем, что она превращает бесцветный субстрат в ярко-синий продукт. Обработка растений этим субстратом приводит к появлению синей окраски там, где экспрессируется ген *GUS*. Благодаря этому ген *GUS* и другие репортерные гены позволяют узнать, где, когда, под каким воздействием и с какой интенсивностью в растении экспрессируется ген, от которого взят промотор. Таким методом выяснили, что экспрессия генов фитохрома происходит в молодых, недифференцированных тканях стебля и корня (рис. 5, Б). Опыты с экспрессией репортерного гена под промотором генов фитохромов показали, что ген фитохрома А экспрессируется в темноте существенно больше, чем на свету, и интенсивнее, чем ген фитохрома В.

Синтезируемый под контролем гена *PHYA* белок обозначают как ФХА – фитохром I типа. ФХА активно синтезируется в этиолированных проростках в темноте. Содержание в них фитохрома в 50 раз превышает его содержание в зеленых растениях. ФХВ и ФХА ответственны за изменение морфогенеза при освещении этиолированных проростков красным светом, то есть определяют процесс диэтиоляции. Ген фитохрома А интенсивно транскрибируется в темноте, в этиолированных проростках, в которых фитохром А накапливается в форме ФХ_к. На свету фитохром А переходит из формы ФХА_к в форму ФХА_{дк}, которая отличается нестабильностью и подвергается протеолизу (разрушается под действием протеаз). ФХВ и другие фитохромы репрессируют экспрессию гена фитохрома А на свету. Кроме того, у однодольных растений на свету разрушается мРНК фитохрома А. Таким образом, свет снижает

содержание фитохрома А за счет репрессии его гена, деградации мРНК и протеолиза фитохрома А в форме ФХА_{дк}, в которую он переходит на свету.

В отличие от гена фитохрома А гены других фитогормонов (В–Е) экспрессируются с меньшей активностью, но их мРНК и белки отличаются большей стабильностью. Поэтому в темноте в этилированных проростках преобладает фитохром А, а на свету – фитохром В, который принимает активное участие в фитохромных реакциях растения после его появления на свет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фитохромная система, представленная в растении несколькими фитохромами, каждый из которых может находиться в двух взаимопревращающихся под действием света формах ($\text{ФХ}_к \xrightleftharpoons[\text{дк}]{\text{к}} \text{ФХ}_{\text{дк}}$), позволяет растению улавливать изменения спектрального состава света (соотношения в нем красного и дальнего красного света) и реагировать на это изменение соответствующими ростовыми и формообразующими процессами, определяющими фотоморфогенез. Фотоморфогенез играет важную приспособительную роль в жизни растения. Фитохромная система позволяет растению реагировать на свет крайне низкой интенсивности и в некоторых случаях секундной продолжительности.

Фитохромная система контролирует прорастание семян, перестройку ростовых процессов, связанную с выходом проростка из почвы на свет (диэтиоляция), обеспечивает растению оптимальную адаптацию к условиям освещения, необходимую для его фотосинтетической активности, участвует в регуляции цветения и многих других процессов в жизни растений.

Автор выражает глубокую благодарность профессору В.А. Синешкову за важные советы и большую помощь в работе над рукописью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тихонов А.Н. Защитные механизмы фотосинтеза // Соросовский Образовательный Журнал. 1999. № 11. С. 16–21.
2. Волотовский И.Д. Фитохром – регуляторный фоторецептор растений. Минск: Наука и техника, 1992.
3. Синешков В.А. Система фитохромов: Фотобиофизика и фотобиохимия in vivo // Биол. мембраны. 1998. Т. 15, № 5. С. 549–572.
4. Уоринг Ф., Филлипс И. Рост растений и дифференцировка. М.: Мир, 1984.
5. Чайлахян М.Х. Регуляция цветения высших растений. М.: Наука, 1988. С. 559.
6. Smith H. Physiological and Ecological Function within the Phytochrome Family // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1995. Vol. 46. P. 289–315.

Рецензент статьи А.Н. Тихонов

* * *

Ольга Николаевна Кулаева, доктор биологических наук, профессор, вице-президент Общества физиологов растений России, главный научный сотрудник Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, специалист в области регуляторных систем растений. Награждена премией им. К.А. Тимирязева РАН. Читает спецкурс “Регуляторные системы растений” на кафедре физиологии растений МГУ. Автор 256 печатных работ, в том числе двух монографий.