

LED ОСВЕЩЕНИЕ — ЭФФЕКТИВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ



Татьяна Куделина,
научный сотрудник Института
экспериментальной ботаники
НАН Беларуси;
10tan10@mail.ru



Ольга Молчан,
заведующая лабораторией
водного обмена и фотосинтеза
растений Института
экспериментальной ботаники
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук, доцент;
olga_molchan@mail.ru

Аннотация. Приводятся результаты исследования влияния света с различным спектральным составом на морфогенез растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа (Col 0), а также мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* с модифицированными процессами сигнальной трансдукции ауксинов и цитокининов. В работе применяли специально разработанную методику, упрощающую оценку влияния света на рост и развитие растений *A. thaliana*, особенно конфигурацию их корневой системы в течение всего вегетационного периода.

Ключевые слова: *A. thaliana*, LED-освещение, спектральный состав, фотоморфозы, ауксин, цитокинин.

Для цитирования: Куделина Т., Молчан О. LED освещение – эффективный инструмент регуляции морфогенеза растений // Наука и инновации. 2022. №5. С. 67–72. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-5-67-72>

Использование светоизлучающих диодов (Light Emission Diodes – LED) в растениеводстве закрытого грунта имеет большие перспективы при оптимизации освещения для точного управления физиологическими реакциями растений [1]. Особенно важно выявить оптимальный спектральный состав света, который влияет на множество физиологических процессов. Хорошо известно, что в синем (С, 425–490 нм) и красном (К, 610–700 нм) диапазонах он наиболее эффективно поглощается хлорофиллами и каротиноидами, поэтому для освещения растений до сих пор преимущественно применяли светодиоды, излучающие только К и/или С свет, как наиболее эффективные для фотосинтеза [1]. К свет обычно стимулирует прибавку сухой массы, разрастание корневой системы, рост стеблей, увеличение площади листового аппарата, а также контролирует продолжительность и качество цветения многих видов [2]. Эксперименты продемонстрировали, что некоторые растения могут проходить жизненный цикл только при К свете, однако

добавление С оказывает позитивное влияние. Выяснилось, что включение в спектр освещения С света усиливает эффективность фотосинтеза, регулирует высоту растения, синтез антоцианов и ответ на биотический стресс [3]. Современные исследования показали, что при комбинаторном применении в светокультуре К и С длин волн наблюдается синергический эффект, а их оптимальное соотношение для каждой культуры будет индивидуальным [4].

Свет – один из наиболее важных факторов окружающей среды, используемый растениями как источник не только энергии, но и информации, оказывающий непосредственное воздействие на их рост и развитие благодаря наличию сложных механизмов фоторецепции, обеспечению жизнедеятельности не только фотосинтетическими, но и фотоморфогенетическими процессами. Для фотоморфогенеза растений важен свет не только К и С, но и других полос спектра, в том числе зеленой (З, 510–570 нм) и дальней красной (ДК, 710–800 нм) [5]. Зеленое излучение может оказывать влияние на ряд физиологических процессов, в том числе устьичную проводимость, формирование листьев и удлинение стебля на ранних этапах роста, способствует фотосинтезу плотных листьев и листьев нижних ярусов [6]. ДК свет и соотношение К/ДК также критически важны для большинства регулируемых фоторецепторами процессов – прорастания семян, этиоляции/деэтиоляции, формирования фотосинтетического аппарата и др. Согласно современным представлениям, у растений функционируют по меньшей мере 5 групп белков-фоторецепторов: рецепторы К и ДК света – фитохромы; С, З и УФ-А-излучения – криптохромы и фототропины; активирующиеся С светом белки семейства ZEITLUPE; УФ-В-рецептор – белок UVR8 [7]. Воспринимая различные по интенсивности, продолжительности и качеству световые стимулы, фоторецепторные белки инициируют активацию внутриклеточных процессов сигнальной трансдукции и тем самым регулируют рост и развитие растений на протяжении всего жизненного цикла [7].

Ключевым событием для запуска индуцированного светом морфогенеза растений может служить активация фитогормональных систем, например, ауксинов и цитокининов, которые играют ключевую роль в регуляции онтогенеза [8–9]. Ауксин контролирует такие процессы, как эмбриогенез, дифференцировку сосу-

дистой ткани, тропизмы, цветение, инициацию латеральных органов (боковых корней и побегов) [8]. Он неравномерно распределяется в тканях растения, формируя градиенты, что приводит к изменению экспрессии десятков генов-мишеней и в результате – к регуляции роста, деления и дифференцировки клеток. Световые сигналы, поступающие из окружающей среды, контролируют и распределение ауксина в тканях, и реакцию на него в отдельных клетках [8]. К важнейшим эффектам цитокининов относят их способность регулировать клеточный цикл, замедлять старение листьев, подавлять рост и ветвление корней, участвовать в реакции на стресс, а также опосредовать влияние света [10].

Требования растения к спектральному составу и интенсивности излучения являются видо- и сортоспецифичными и зависят от стадии развития, а множественные взаимодействия между различными системами восприятия света обуславливают еще и важную роль соотношения разных спектральных областей [4]. Поэтому для создания оптимальных режимов освещения требуется оценка эффектов света с различным соотношением физиологически значимых диапазонов К/С, С/З и К/ДК в сложных спектральных композициях. С другой стороны, исследования эффектов LED-освещения представляют значительный фундаментальный интерес, поскольку позволяют выявить механизмы действия на растения отдельных диапазонов излучения в сложных спектрах, а также пути взаимодействия светового и фитогормонального сигналов.

Целью данной работы была оценка влияния LED-освещения с различным соотношением физиологически значимых диапазонов (К/С, С/З, К/ДК) в сложных спектральных композициях на морфогенез растений арабидопсиса дикого типа и мутантов с модифицированными процессами сигнальной трансдукции ауксинов и цитокининов.

Материалы и методика исследований

Объектом исследований являлись растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа (Col 0) и мутанты *wei8-1tar1-1* и *ahk2*. Растения *wei8-1tar1-1* получены путем скрещивания одиночных мутантов *wei8-1* и *tar1*, у которых инактивирован путь синтеза ауксина, в результате чего отмечается более низкий (60%) уровень фитогормона по сравнению с диким типом [11].

У мутантов *ahk2* инактивированы гены одного из рецепторов цитокинина (*Arabidopsis Histidine Kinase* (АНКs) гистидинкиназы АНК2 [12]. Растения выращивали на стерильной питательной среде Мурасиге-Скуга на основе фитогеля в квадратных (120x120 мм) чашках Петри на поверхности гидратцеллюлозной пленки [13]. Перед посадкой семена стерилизовали и размещали на поверхности среды из расчета 2 растения на одну чашку Петри. Чашки оставляли на стратификацию (4 сут, 4 °С), после чего переносили в климатическую камеру, где закрепляли в вертикальном положении. Растения освещали люминесцентными (LL) и светодиодными (LED) лампами с плотностью потока фотонов 100 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ при 24 °С и 24-часовом фотопериоде.

LED-облучатели производства ЦСОТ НАН Беларуси были разработаны по техническому заданию Института экспериментальной ботаники НАН Беларуси. В спектральном составе LED-освещения, содержащем все длины волн от 400 до 800 нм, варьировали соотношения уровней плотности потока фотонов в физиологически значимых диапазонах: С, З, К и ДК (рис. 1, таблица). Соотношение К/С составляло 1 и 4 для LED1 и LED2 освещения соответственно, при сохранении на постоянном уровне суммарной плотности потока фотонов С и К света. Величины К/ДК и С/З в спектрах LED-освещения варьировали в диапазоне соотношений, наиболее близких к наблюдаемым в естественных условиях. Спектральные характеристики источников освещения анализировали с использованием спектрорадиометра «МС-12» (Беларусь).

Освещение		LL	LED 1	LED 2
Соотношение	К/С	2	1	4
	К/ДК	14	3	6
	С/З	1	2	1

Таблица. Спектральный состав освещения

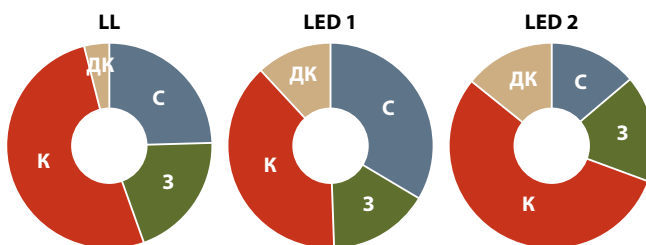


Рис. 1. Распределение физиологически значимых спектральных диапазонов у люминесцентного (LL) и LED-облучателей

После 25 сут вегетации определяли длину меристематической зоны боковых корней, сухую массу корневой системы и розетки листьев, количество соцветий. Для измерения длины меристемы корни фиксировали в 70%-ном этаноле, после чего ополаскивали дистиллированной водой и переносили в 50%-ный глицерин [14]. На временных препаратах под микроскопом Kern BDS-400 делали фотоснимки корней, по которым далее с помощью программы [ImageJ] измеряли длину меристематической зоны. Эксперимент проводили в трехкратной повторности. Объем экспериментальной выборки в каждом варианте составил не менее 10 растений. Данные на гистограммах представлены в виде средних арифметических значений со стандартным отклонением.

Результаты исследований и их обобщение

Особенности роста корневой системы и розетки листьев Arabidopsis thaliana дикого типа и мутантов с модифицированными системами ауксина и цитокинина при использовании LED-освещения различного спектрального состава.

Используемая в данной работе методика культивирования растений *Arabidopsis thaliana*, сочетающая применение питательной среды на основе фитогеля и гидрофильной мембраны из гидратцеллюлозной пленки, существенно упрощает оценку влияния света на рост растений, конфигурацию и развитие корневой системы, включая рост главного корня и формирование боковых корней в течение всего вегетационного периода (рис. 2). Данная методика – практически единственный способ проследить, как происходит образование и рост корней. А мутанты с модифицированными процессами синтеза и трансдукции сигналов фитогормонов являются эффективным инструментом для изучения роли ауксина и цитокинина в этих процессах.

Так, на рис. 2 хорошо видно, что особенно эффективным для формирования разветвленной корневой системы *A. thaliana* Col 0 был вариант освещения LED2 с самым высоким уровнем К света, соотношением К/С и низким – С света (рис. 2 В). Размер розетки листьев и содержание в них хлорофилла у *A. thaliana* дикого типа также были выше при данном варианте освещения [15]. Мутанты *wei8-1tar1-1* и *ahk2*, хотя и не имели каких-либо очевидных морфологических

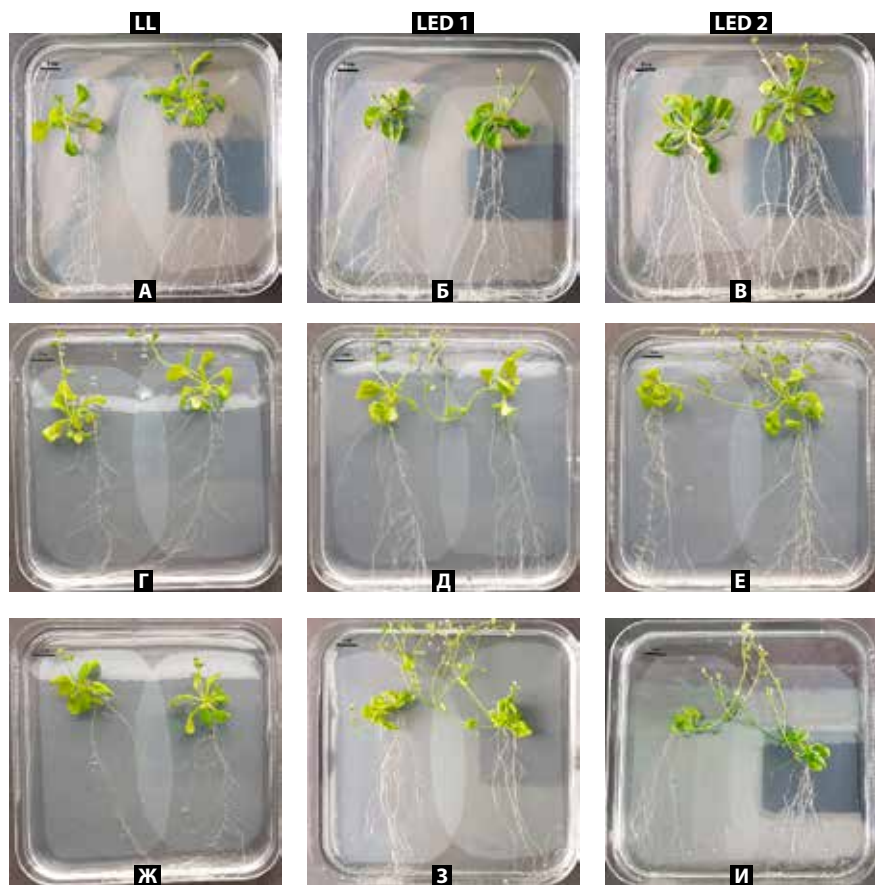


Рис. 2. Растения *Arabidopsis thaliana* дикого типа (А, Б, В), *wei8-1tar1-1* (Г, Д, Е), *ahk2* (Ж, З, И) при люминесцентном (А, Г, Ж) и различных вариантах светодиодного (LED1 – Б, Д, З; LED2 – В, Е, И) освещения; мерная линейка 1 см

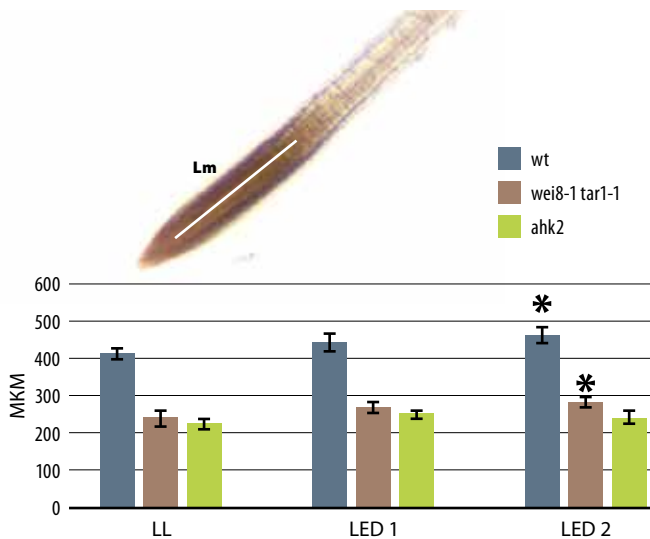


Рис. 3. Длина меристематической зоны боковых корней *Arabidopsis thaliana* дикого типа (wt) и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* при различных вариантах освещения

* – различия достоверны при $p \leq 0,05$, сравнение проводили с соответствующим вариантом при люминесцентном освещении (LL)

дефектов, отличались более низким уровнем ростовых процессов в сравнении с Col 0 при всех вариантах освещения, однако фенотип растений различался (рис. 2–4).

Растущая часть корня состоит из меристемы, где клетки делятся, и зоны растяжения [14]. Длина меристемы у мутантных растений была почти в 2 раза меньше, чем у растений дикого типа, а чем короче меристематическая зона, тем менее интенсивен рост, что и объясняет более слабое развитие корневой системы мутантных растений при всех вариантах освещения (рис. 3). Ауксин и цитокинин – ключевые гормоны, которые контролируют архитектуру первичного корня и инициирование новых боковых корней у *A. thaliana*. Оба процесса регулируются перекрестным взаимодействием этих гормонов и их сигнальных путей [9]. Влияние светодиодного освещения проявлялось в увеличении меристематической зоны боковых корней растений дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* при LED2 по сравнению с LL-вариантами. Интересно было отметить отсутствие эффекта LED2 освещения на рост боковых корней у мутантов *ahk2*.

Самую большую сухую массу вегетативных органов растения Col 0 и мутанты *wei8-1tar1-1* также накапливали при освещении LED2 (рис. 4). В спектре LED1 примерно одинаковые К/ДК, что максимально приближает его к солнечному, однако данное освещение стимулировало рост корневой системы и розетки листьев арабидопсиса дикого типа и ауксин-дефицитного мутанта не так эффективно. Обращает на себя внимание достаточно интенсивный рост корневой системы у растений дикого типа и *ahk2*-мутантов при LED1 по сравнению с LL. Растения, мутантные по генам рецепторов цитокининов, при варианте LED1 характеризовались самым большим накоплением массы корней и листьев (рис. 4). Также важно отметить значительное снижение

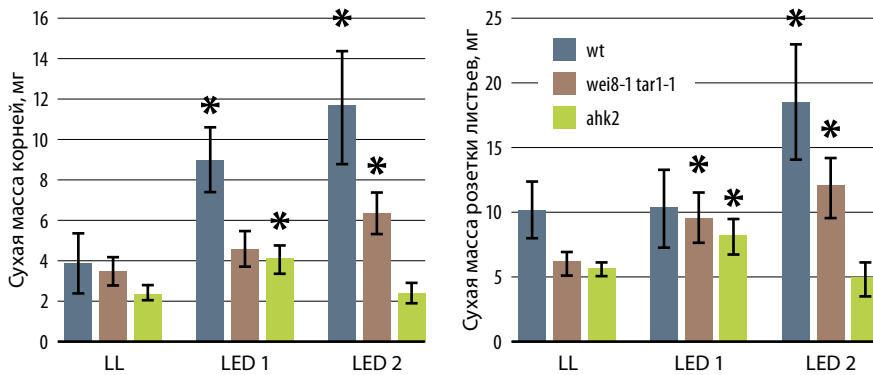


Рис. 4. Сухая масса корневой системы (а) и розетки листьев (б) у *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* при различных вариантах освещения * – различия достоверны при $p \leq 0,05$, сравнение проводили с соответствующим вариантом при люминесцентном освещении (LL)

вегетативной массы *ahk2*-мутантов по отношению к растениям дикого типа при LED2, в то время как при LL и LED1 различия были минимальными. Известно, что действие света и цитокининов осуществляется независимо или последовательно через общие промежуточные звенья сложной цепочки передачи сигналов [16], а основные функции генов АНК и эндогенных цитокининов – запуск деления и поддержание меристематической компетентности клеток [9]. Возможно, при LED1 активировались цитокинин-независимые пути или участники передачи сигнала цитокинина, не связанные с активностью гистидинкиназы АНК2, что снимало ингибирующий эффект ростовых процессов, вызванный инактивированными генами у *ahk2*-мутантов. Отсутствие стимулирующего действия LED1 с $K/C=1$, $C/3=2$ и $K/ДК=3$ на рост корневой системы у *wei8-1tar1-1* мутантов дополнительно может свидетельствовать о том, что активация роста корней светом данного спектрального состава опосредуется значительным повышением уровня ауксина. А низкая интенсивность роста розетки листьев и корневой системы мутантов *ahk2* по сравнению с диким типом при LED2 с $K/C=4$, $C/3=1$ и $K/ДК=6$ указывает на участие рецепторов гистидинкиназы АНК2 в реализации ответов *A. thaliana* на освещение с таким спектром.

Влияние LED-освещения различного спектрального состава на цветение Arabidopsis thaliana дикого типа и мутантов.

У мутантных растений при всех вариантах освещения в среднем на 2–4 дня раньше, чем у дикого типа, образовывались соцветия (данные не показаны). При этом как у *Col 0*, так и у обоих типов мутантов цветение наступало раньше и было более обильным при LED-осве-

щении по сравнению с люминесцентным (рис. 5). У многих длиннодневных растений, включая *A. thaliana*, наблюдается ускорение цветения в ответ на низкое соотношение К/ДК, а фитохромы RHYВ и RHYА выступают основными фоторецепторами, которые контролируют цветение в ответ на этот сигнал [17]. Это может объяснить полученный эффект, поскольку К/ДК отношение при освещении LED1 и LED2 было, хотя и больше 1, но в 4 и 2 раза соответственно ниже, чем при LL (таблица).

Заключение

Увеличение уровня К и снижение – С света и, таким образом, повышение К/С соотношения ($K/C=4$) в спектре, включающем все длины волн в диапазоне 400–800 нм, приводит к увеличению меристематической зоны корней, формированию более разветвленной корневой системы и накоплению вегетативной массы у растений дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1*. В то же время реакция растений *Arabidopsis* с модифицированными процессами трансдукции сигнала цитокинина принципиально отличается. Наиболее эффективным для роста листьев и корневой системы *ahk2*-мутантов было освещение с самым высоким уровнем С и наиболее низким – К света, то есть с пониженным соотношением К/С ($K/C=1$). Полученные данные указывают на важную роль рецепторов

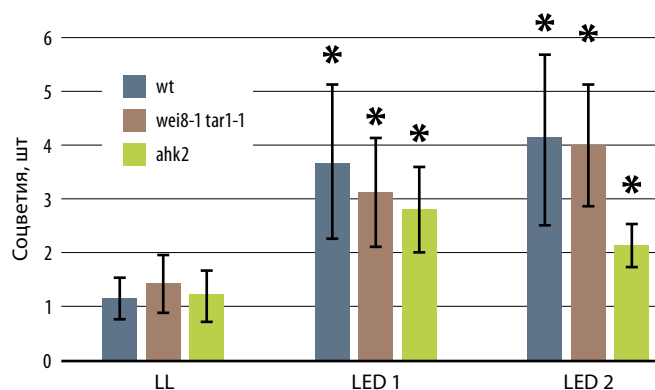


Рис. 5. Количество соцветий *Arabidopsis thaliana* дикого типа и мутантов *wei8-1tar1-1* и *ahk2* при освещении различного спектрального состава * – различия достоверны при $p \leq 0,05$, сравнение проводили с вариантом при люминесцентном освещении (LL)

гистидинкиназы АНК2 в стимуляции роста вегетативных органов *A. thaliana* в ответ на повышение уровня К и снижение – С света в сложных спектральных композициях. При этом LED освещение с более высоким уровнем С и низким – К света достаточно эффективно стимулировало накопление сухой массы корневой системы по сравнению с люминесцентным. Стимуляция роста корней светом данного спектрального состава, вероятно, не зависит от активности гистидинкиназы АНК2 и опосредуется значительным повышением уровня эндогенных ауксинов. Уменьшение соотношения К/ДК в спектре светодиодных источников освещения по сравнению с люминесцентной лампой способствовало стимуляции цветения *Arabidopsis thaliana* вне зависимости от характера мутации и несмотря на другие различия в спектральном составе.

Таким образом, учитывая сложность фоторецепторных процессов, запускаемых светом сигнальных каскадов, и экспрессии многочис-

■ **Summary.** The results of studying the effect of light with different spectral composition on the morphogenesis of wild-type of *Arabidopsis thaliana* (Col 0), as well as *wei8-1tar1-1* and *ahk2* mutants with modified signal transduction processes of auxins and cytokinins. We used a specially developed technique that simplifies the assessment of the effect of light on the growth and development of *A. thaliana* plants, especially the configuration of their root system during the entire growing season. Luminescent (LL) and light-emitting diode (LED) light sources were used, which made it possible to vary the physiologically significant blue (B), green (G), red (R), and far red (FR) spectral ranges. The R/B ratio was equal to 1 and 4 for LED 1 and LED 2 lighting options, respectively, at the same total flux density of B and R light photons. The ratios of R/FR and B/G in the spectra of LED illumination varied in the ranges closest to those observed in natural conditions. The most effective for the formation of the root system, rosette of leaves and inflorescences of *A. thaliana* (Col 0) was LED illumination with R/B = 4, B/G = 1 and R/FR = 6. The obtained data indicate an important role of AHK2 histidine kinase receptors in stimulation of the formation of vegetative organs of *A. thaliana* in response to an increase in the level of R and a decrease in B light (an increase in the R/B ratio) in complex spectral compositions. At the same time, LED lighting with a higher level of B and a low level of R light (R/B = 1, B/G = 2 and R/FR = 3) rather effectively stimulated the accumulation of the dry mass of the root system and the formation of inflorescences compared to fluorescent lighting. Stimulation of root growth by light of this spectral composition is probably mediated by a significant increase in the level of endogenous auxins. The decrease in the R/FR ratio in the spectrum of LED sources compared to the fluorescent lamp contributed to the stimulation of flowering of *A. thaliana*, regardless of the nature of the mutation and despite other differences in the spectral composition.

■ **Keywords:** *A. thaliana*, LED lighting, spectral composition, photomorphoses, auxin, cytokinin.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-5-67-72>

ленных генов, механизмы, лежащие в основе эффектов освещения с различной комбинацией световых диапазонов, все еще нуждаются в дальнейшем изучении. Однако полученные результаты уже могут быть учтены и использованы при разработке и применении светодиодных источников света для выращивания растений. ■

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований Б19РМ-065, Б21М-097 и Российского фонда фундаментальных исследований Бел_мол_а 19–54–04015.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. LEDs Make It Resilient: Effects on Plant Growth and Defense Review / M. Lazzarin [et al.] // Trends in Plant Science. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.11.013>.
2. Закурин А.О. Светокультура растениеводства защищенного грунта: фотосинтез, фотоморфогенез и перспективы применения светодиодов / А.О. Закурин, А.В. Щенникова, А.М. Каминская // Физиология растений. 2020. Т. 67. №3. С. 246–258.
3. Blue light requirements for crop plants used in bioregenerative life support systems / N. C. Yorio [et al.] // Life Support & Biosph. Sci. 1998. V. 5. P. 119–128.
4. Blue light added with red LEDs enhance growth characteristics, pigments content, and antioxidant capacity in lettuce, spinach, kale, basil, and sweet pepper in a controlled environment / M. T. Naznin [et al.] // Plants (Basel). 2019. V. 8. №4 // <https://doi.org/10.3390/plants8040093>.
5. Crop photosynthetic response to light quality and light intensity / I. Shafiq [et al.] // Journal of Integrative Agriculture. 2021. Vol. 20(1). P. 4–23 // [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63227-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63227-0).
6. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green / I. Terashima [et al.] // Plant Cell Physiol. 2009. Vol. 50. P. 684–697.
7. Войцеховская О.В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений / О.В. Войцеховская // Физиология растений. 2019. Т. 66. №3. С. 163–177.
8. Integration of light and auxin signaling / K. J. Halliday [et al.] // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2009. doi: 10.1101/cshperspect.a001586.
9. Kieber J.J. Cytokinin signaling in plant development / J.J. Kieber, G.E. Schaller // Development. 2018. No. 145(4): dev149344 doi: 10.1242/dev.149344.
10. Research Progress on the Roles of Cytokinin in Plant Response to Stress / Y. Liu [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. 2020. 21(18):6574. doi:10.3390/ijms21186574.
11. TAA1-Mediated Auxin Biosynthesis Is Essential for Hormone Crosstalk and Plant Development / A. N. Stepanova [et al.] // Cell. Vol. 133. Iss. 1. 2008. №4. P. 177–191. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.047>.
12. The Arabidopsis Information Resource // <https://www.arabidopsis.org/servlets/TairObject?accession=locus:2177261>.
13. Применение гидратцеллюлозной пленки для исследования роста и развития корневой системы модельного растения *Arabidopsis thaliana* L / А.С. Кривобок [и др.] // Биотехнология. 2020. №1 С. 36–43.
14. Зависимость процессов роста и деления клеток в корне от его диаметра / Е.И. Быстрова [и др.] // Онтогенез. 2018. Т. 49. №2. С. 91–100.
15. Особенности фотоморфогенеза *Arabidopsis thaliana* при использовании LED-освещения различного спектрального состава / Т.Н. Куделина [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. 2021. Т. 66. №1. С. 42–52. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-1-42-52>.
16. Liu X. Interplay between Light and Plant Hormones in the Control of Arabidopsis Seedling Chlorophyll Biosynthesis / X. Liu, Y. Li, S. Zhong // Front. Plant Sci. 2017. No.8. P. 1433. doi: 10.3389/fpls.2017.01433.
17. Regulation of photoperiodic flowering by Arabidopsis photoreceptors / T. Mockler [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100. No4. P. 2140–2145. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437826100>.