

УДК: 635.64:581.132.1

Влияние красного света на рост и содержание углеводов у короткодневной и фотопериодически нейтральной линий сои

В.Ф.Тимошенко, В.В.Жмурко

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
vltim1@yandex.ru

В вегетационных опытах исследовали влияние красного света (КС, 660 нм) на рост, содержание разных форм углеводов и амилазную активность у короткодневной (КД) и фотопериодически нейтральной (ФПН) изогенных линий сои (*Glycine max* L.(Merr.)). Установлено, что активация фитохромов КС у короткодневной линии сои вызывает снижение содержания редуцирующих сахаров и крахмала, но увеличение суммарного содержания водорастворимых углеводов, высоты растений и их биомассы. Предполагается, что КС стимулирует использование углеводов в ростовых процессах КД линии. Влияния КС на изученные показатели у ФПН линии сои не выявлено.

Ключевые слова: соя (*Glycine max* L. (Merr.)), изогенные линии, фитохромы, рост, углеводы, морфогенез.

Вплив червоного світла на ріст і вміст вуглеводів у короткоденної та фотоперіодично нейтральної лінії сої

В.Ф.Тимошенко, В.В.Жмурко

У вегетаційних досліджах вивчали вплив червоного світла (ЧС, 660 нм) на ріст, вміст різних форм вуглеводів, а також активність амілази у короткоденної (КД) і фотоперіодично нейтральної (ФПН) ізогенних ліній сої (*Glycine max* L.(Merr.)). Встановлено, що ЧС у короткоденної лінії сої викликає зниження вмісту редуруючих цукрів, крохмалю, ріст вмісту розчинних вуглеводів, висоти рослин та їх біомаси. Припускається, що ЧС посилює використання вуглеводів в ростових процесах КД лінії. Впливу ЧС на вивчені показники у фотоперіодично нейтральної лінії сої не виявлено.

Ключові слова: соя (*Glycine max* L.(Merr.)), ізогенні лінії, фітохроми, ріст, вуглеводи, морфогенез.

The influence of red light on the growth and carbohydrate content in short-day and neutral lines of soybean

V.F.Timoshenko, V.V.Zhmurko

The influence of red light (660 nm) on growth, content of different forms of carbohydrates and amylase activity in short-day and neutral isogenic lines of soybean (*Glycine max* L. (Merr.)) have been investigated in vegetative experiments. It has been found that activation of phytochromes by red light in the short-day soybean line causes decrease in the content of reducing sugars and starch, but increase of water-soluble carbohydrates, plant height and biomass. It is suggested that red light stimulates utilization of carbohydrates in growth processes in short-day line of soybean. The effect of red light on the investigated parameters in neutral soybean line has not been identified.

Key words: soybean (*Glycine max* L. (Merr.)), isogenic lines, phytochromes, growth, carbohydrates, morphogenesis.

Введение

В процессе эволюции у растений сформировалась система фоторецепторов, которая воспринимает информационный световой сигнал внешней среды в диапазоне от 280 до 750 нм. Она включает рецепторы ультрафиолетовой области (UV-B), три типа рецепторов голубой области спектра (UV-A, cry1-3), фототропины 1 и 2 (Van Buskirk et al., 2012), а также рецепторы красного света (660–730 нм) – фитохромы (phy A–E) (Quail, 2010). Эта система фоторецепторов связана с регуляцией почти всех процессов жизнедеятельности растений – от прорастания семян до инициации цветения (Franklin, Quail, 2010; Kami et al., 2010).

В настоящее время из фоторецепторов наиболее интенсивно исследуются фитохромы. Установлена структура их молекул и механизмы конформации при действии красного (660) и дальнего красного (730 нм) света (Rockwell et al., 2006), локализация в клетке (Van Buskirk et al., 2012), механизм

трансдукции светового сигнала и генетический контроль синтеза фитохромов (Quail, 2010). Показано, что активация системы фитохромов вызывает светозависимую экспрессию генов арабидопсиса, связанных с инициацией флорального морфогенеза (Chen, Chory, 2011).

Вместе с тем, до настоящего времени остается не ясным вопрос о возможной роли фитохромов в активации генов контроля фотопериодической чувствительности, хотя эти рецепторы относят к основным системам, которые воспринимают фотопериодический сигнал (Lagercranz, 2009).

Гены контроля фотопериодической чувствительности идентифицированы у пшеницы и ячменя (*PPD*), риса (*HD*) (Cosgraves et al., 2007) и сои (*EE*) (Cober et al., 1996). Проводится интенсивное исследование фенотипических эффектов в условиях разного фотопериода, а также молекулярных механизмов экспрессии этих генов (Cosgraves et al., 2007).

Вместе с тем, весьма ограничены данные о возможной роли генов фотопериодической чувствительности в детерминации физиолого-биохимических процессов у растений при активации системы фитохромов. Лишь в некоторых опытах с изогенными по генам *EE* линий сои показано, что линия, несущая доминантный ген *E7*, изменяла скорость перехода к цветению в ответ на изменение соотношения красный : дальний красный свет (R : FR) (Cober, Volgend, 2001). По мнению авторов этот ген (*E7*) контролирует у сои фитохромные эффекты.

Не исследован также вопрос о возможном участии генов фотопериодической чувствительности в регуляции обмена углеводов при активировании фитохромов, которые играют существенную роль в инициации перехода растений к цветению (Chincinska et al., 2008; Matsoukas et al., 2012), в том числе и в условиях разной длины дня (Цыбулько, 1998).

В литературе имеются данные об одном из эффектов активации фитохромов на динамику углеводов у короткодневных растений. У этих растений прерывание темного периода красным светом в короткодневном фотопериодическом цикле вызывало существенное снижение оттока углеводов из листьев (Цыбулько, 1998). По мнению автора, это является одной из причин задержки перехода к цветению короткодневных растений в условиях короткого фотопериода. Показано также, что активация фитохромов красным светом обуславливала изменение в динамике содержания углеводов (Щеголев, Жмурко, 2008) и активности сахарозофосфатсинтазы – одного из ключевых ферментов синтеза сахарозы (Щеголев, Жмурко, 2008; Щоголев, Жмурко, 2013).

Однако по этим данным сложно судить об участии генов фотопериодической чувствительности в регуляции обмена углеводов при активации фитохромов. По нашему мнению, для этого целесообразно использовать в качестве модельных объектов изогенные линии, у которых такие гены идентифицированы. К ним, в частности, относятся изогенные по генам *EE* линии сои. У этих линий одинаков генотип, но различаются они только по состоянию отдельных генов *EE* (доминантное / рецессивное) (Cober et al., 1996).

В связи с изложенным целью наших исследований было изучение влияния активации фитохромов красным светом на содержание углеводов и ростовые процессы у изогенных по генам *EE* линий сои.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований были изогенные по генам *E* линии сои (*Glycine max* L. (Merr.)) сорта Clark. Мы использовали короткодневную (КД) линию (*E₁E₂E₃*) и фотопериодически нейтральную (ФПН) линию (*e₁e₂e₃*). Семена линий получены в Национальном центре генетических ресурсов растений Украины. Поскольку соя является строгим самоопылителем, то генетическая однородность линий поддерживалась путем строгого контроля за тем, чтобы при уборке не допускалось механическое смешивание семян разных линий.

Растения выращивали в вегетационной камере кафедры физиологии и биохимии растений Харьковского национального университета им. В.Н.Каразина в почвенной культуре, почва чернозем. Растения каждой линии выращивали в шести сосудах объемом 3 литра, в каждом сосуде по десять растений. В течение всего опыта поддерживали постоянные условия выращивания: температура 20–25/18–20°C (день/ночь), влажность почвы 70% от полной влагоемкости почвы, интенсивность освещения 20 кЛк, фотопериод 16 часов. Через 4–5 недель вегетации после формирования второго настоящего листа растения каждой линии в трех сосудах (опытные) в начале темного периода в течение 30 минут освещали красным светом (660 нм) слабой интенсивности, используя светодиоды, излучающие в области 660±10 нм. Другие три сосуда с растениями каждой линии, которые не облучали красным светом, служили контролем.

В анализ использовали полностью развившийся второй лист сверху. Отбор проб проводили в 9 часов утра и 13 часов дня после двух-, четырех- и семикратного облучения растений.

Содержание сахаров определяли микрометодом Швецова и Лукьяненко, крахмала – по Ястрембовичу и Калинину, суммарную активность амилаз – по скорости расщепления крахмала (Методы ..., 1987).

Достоверность различий рассчитывали, используя критерий Стьюдента (Доспехов, 1972). В таблицах приведены средние из 6–8 определений.

Результаты

В табл. 1 представлены данные о влиянии красного света на содержание растворимых углеводов в листьях короткодневной и фотопериодически нейтральной изогенных линий сои. Общей закономерностью в изменении содержания сахаров, независимо от варианта опыта, было увеличение их содержания с 9 до 13 часов, что связано с известным фактом возрастания содержания ассимилятов в течение светового периода. Однако при этом проявилось влияние красного света на содержание сахаров. У КД линии в утренние часы красный свет вызывал увеличение содержания углеводов после четырех- и семикратного облучения, по сравнению с контролем. Днем достоверное увеличение содержания сахаров под действием красного света у КД растений проявлялось после четырех облучений. После двух и семи облучений наблюдалась тенденция к росту этого показателя.

Таблица 1.

Влияние красного света на содержание растворимых углеводов (мг/г сухой массы) в листьях изогенных линий сои с разной фотопериодической чувствительностью

Вариант опыта	Число облучений	Содержание сахаров, в часы			
		9	13	9	13
		Редуцирующие сахара		Сумма сахаров	
Короткодневная линия, генотип $E_1E_2E_3$					
Контроль	–	36,3	62,1	86,5	158,8
Облучение КС	2	33,5	59,6	83,2	167,7
Контроль	–	40,8	85,8	86,1	159,3
Облучение КС	4	35,4*	72,0**	96,6*	172,5**
Контроль	–	37,7	75,1	85,2	160,5
Облучение КС	7	30,5**	70,2	93,5*	169,4
Фотопериодически нейтральная линия, генотип $e_1e_2e_3$					
Контроль	–	36,5	63,7	90,6	161,6
Облучение КС	2	36,23	64,4	89,0	160,8
Контроль	–	42,6	87,8	86,9	161,9
Облучение КС	4	38,9	79,9*	84,2	155,5
Контроль	–	34,4	74,1	90,2	158,7
Облучение КС	7	32,2	71,9	92,4	162,7

Примечание: различия с контролем существенны: * – при $P \leq 0,05$; ** – при $P \leq 0,01$.

У ФПН линии достоверных различий по содержанию растворимых углеводов между облученными красным светом и контрольными растениями не установлено.

По содержанию редуцирующих сахаров во всех вариантах опыта наблюдалась общая тенденция: от второго до четвертого облучения содержание сахаров несколько возрастало, а к седьмому наблюдалось снижение данного показателя. Более выражены эти изменения в дневные часы, чем в утренние. Красный свет у КД линии вызывал снижение содержания редуцирующих сахаров, по сравнению с контролем в утренние часы после четырех и семи облучений, а в дневные – после четырех.

У ФПН линии достоверное снижение содержания редуцирующих сахаров под действием красного света установлено в дневные часы после четырех облучений. А в утренние и дневные часы после четырех и семи облучений проявлялась лишь тенденция к снижению содержания редуцирующих сахаров, по сравнению с контролем.

Содержание крахмала зависело от фотопериодической чувствительности линии и влияния красного света (табл. 2). Так, в листьях короткодневной линии утром после четырех и семи облучений красным светом содержание крахмала было ниже, чем в контроле. В дневные часы такое снижение установлено после четырех облучений. После семи облучений наблюдалась тенденция к снижению содержания крахмала. Влияния же красного света на количество крахмала у ФПН линии нами не выявлено. Результаты определения содержания крахмала показали, что оно, как и содержание сахаров, днем у обеих линий в контроле и в опыте было значительно выше, чем утром, что связано с увеличением его синтеза в течение дня.

Таблица 2.

Влияние красного света на содержание крахмала (мг/г сухой массы) и амилазную активность (мг гидролизованного крахмала / г сырой массы · час) в листьях изогенных линий сои с разной фотопериодической чувствительностью

Вариант опыта	Число облучений	Часы взятия проб			
		9	13	9	13
		Содержание крахмала		Активность амилаз	
Короткодневная линия, генотип $E_1E_2E_3$					
Контроль	–	9,0	12,7	6,2	6,2
Облучение КС	2	9,4	13,5	6,2	6,4
Контроль	–	9,6	13,5	5,8	6,0
Облучение КС	4	5,6**	9,1*	6,4*	6,3
Контроль	–	9,2	15,4	5,7	6,2
Облучение КС	7	7,5*	13,3	6,3*	6,5
Фотопериодически нейтральная линия, генотип $e_1e_2e_3$					
Контроль	–	9,6	12,0	5,9	6,4
Облучение КС	2	9,2	11,6	5,9	6,3
Контроль	–	9,9	12,1	5,9	6,0
Облучение КС	4	9,3	12,9	5,8	5,8
Контроль	–	8,6	14,0	5,7	6,3
Облучение КС	7	8,2	13,3	5,9	6,2

Примечание: различия с контролем существенны: * – при $P \leq 0,05$; ** – при $P \leq 0,01$.

Активність амілаз (табл. 2) у короткоденної лінії зростала в ранні години на четверті і сьомі дні облучення, порівняно з контролем. Днем в течение всего експеримента наблюдалась тенденция к возрастанию амилазной активности у облученных красным светом растений по сравнению с контрольными. У фотоперіодично нейтральної лінії впливу червоного світла на активність амілаз не встановлено.

Дані морфометричних визначень (табл. 3) свідчать про те, що у короткоденної лінії під впливом червоного світла збільшується висота і суха маса рослин. У фотоперіодично нейтральної лінії достовірних відмінностей за цими показниками між контрольними і дослідними рослинами не виявлено.

Таблиця 3.

Влияние красного света на формирование биомассы изогенных линий сои с разной фотоперіодической чувствительностью

Варианти опыта	Высота растений, см	Количество листьев, штук / растение	Сухая масса растения, г
Короткоденная линия, генотип $E_1E_2E_3$			
Контроль	57	5,8	0,49
Облучение КС	62*	6,1	0,55*
Фотоперіодично нейтральная линия, генотип $e_1e_2e_3$			
Контроль	55	5,0	0,44
Облучение КС	54	5,0	0,42

Примечание: различия с контролем существенны: * – при $P \leq 0,05$.

Обсуждение результатов

Анализ данных по изменению содержания растворимых углеводов и крахмала у короткоденної лінії сої в результате облучения красным светом позволяет предположить, что активация фитохрома приводит к усилению использования углеводов в метаболических процессах, поскольку после облучения содержание основного запасного углевода – крахмала снижается, а содержание сахаров – увеличивается. Снижение содержания крахмала у облученных растений коррелирует с ростом амилазной активности. Повышение активности амилаз у облученной короткоденної лінії сої может также объясняться влиянием активного фитохрома на интенсивность метаболических процессов, в том числе, на более интенсивное использование углеводов в метаболизме в течение светового периода.

В пользу этого предположения свидетельствует и уменьшение под влиянием КС редуцирующих сахаров, которые непосредственно вовлекаются в обмен веществ и, поэтому, раньше других сахаров расходуются.

Увеличение высоты и биомассы у облученной короткоденної лінії указывает на активацию красным светом ростовых процессов.

Поскольку изменение в содержании углеводов у короткоденної лінії под действием красного света сопровождается усилением роста растений, можно предположить, что активация метаболизации углеводов в этих условиях связана с их использованием на формирование.

Полученные нами результаты, как нам представляется, согласуются с некоторыми литературными. Так, по литературным данным, активация фитохромов приводит к повышению интенсивности обмена углеводов и активности ферментов углеводного обмена (Parks, 2003; Sharkey et al., 1991; Щоголев, Жмурко, 2013). Есть также данные о регуляторном воздействии красного света на активность фотосинтетического аппарата (Воскресенская, 1987). Согласно результатам исследований (Шпилева, Щеголев, 2008), у облученных растений раннеспелого сорта томатов Кременчужский 179 в первой половине дня замедлялось накопление в листьях углеводов при существенном увеличении активности амилаз и сахарозофосфатсинтазы и усиливались ростовые процессы. Эти изменения авторы объясняют тем, что воздействие красного света на рассаду привело к интенсификации процессов оттока ассимилянтов из листьев.

Вместе с тем, результаты изучения влияния прерывания ночи красным светом на отток продуктов ассимиляции у периллы, сои, чумизы, сорго, приведенные Цыбулько (1998), свидетельствуют о значительном снижении ночного оттока ассимилянтов, в частности углеводов, из листьев. Продукты ассимиляции у короткодневных растений представлены главным образом сложными углеводами, перемещение и превращение которых осуществляется после ночного гидролиза. Прерывание ночи светом, по мнению автора, нарушает их гидролиз, и поэтому снижается отток.

Очевидно, эффекты красного света зависят не только от растительного объекта, но и от времени облучения (в начале темного периода или в его середине) и времени протекания физиолого-биохимического процесса.

Большее содержание сахаров и крахмала, установленное в нашей работе днем, по сравнению с соответствующими показателями утром, в листьях обеих линий сои может объясняться тем, что в дневные часы наблюдалось превосходство фотосинтетического образования и накопления углеводов над их оттоком и использованием в формообразовательных процессах.

Отсутствие достоверных различий по содержанию сахаров, крахмала и морфометрическим показателям между облученными и контрольными растения фотопериодически нейтральной линии, видимо, свидетельствует об отсутствии у этих растений влияния красного света на углеводный обмен и рост.

Таким образом, растения одного сорта, но с разной реакцией на длину дня по-разному реагируют на красный свет. Известно, что фитохромная система важна для восприятия растениями чередования дня и ночи. «Сверья» фитохромные сигналы с циркадными ритмами, растения могут реагировать на длину фотопериода (Salome et al., 2002; Lagercranz, 2009). Кроме того, наши данные и результаты ранее проведенных исследований (Щеголев, Жмурко, 2008) свидетельствуют о том, что активация фитохромов красным светом обуславливала изменение в динамике содержания углеводов. Возможно, контроль фитохромной системой углеводного обмена и участие в фотопериодической реакции растений взаимосвязаны. Однако для доказательства такого предположения необходимы дополнительные исследования.

Список литературы

- Воскресенская Н.П. Фоторегуляторные реакции и активность фотосинтетического аппарата // Физиология растений. – 1987. – Т.34, Вып.4. – С. 669–684. /Voskresenskaya N.P. Fotoregulyatornyye reaktsii i aktivnost' fotosinteticheskogo apparata // Fiziologiya rasteniy. – 1987. – Т.34, Вып.4. – С. 669–684./
- Доспехов Б.А. Планирование полевого опыта и статистическая обработка его данных. – М.: Колос, 1972. – 205с. /Dospikhov B.A. Planirovaniye polevogo opyta i statisticheskaya obrabotka yego dannykh. – М.: Kolos, 1972. – 205s./
- Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И.Ермакова. – М.: Агропромиздат, 1987. – 430с. /Metody biohimicheskogo issledovaniya rasteniy / Pod red. A.I.Yermakova. – М.: Agropromizdat, 1987. – 430s./
- Цыбулько В.С. Метаболические закономерности фотопериодизма растений. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 187с. /Tsybul'ko V.S. Metabolicheskiye zakonomernosti fotoperiodizma rasteniy. – Kiev: Agrarna nauka, 1998. – 187s./
- Шпилёва Т.Г., Щёголев А.С. Фитохромная регуляция ростовых процессов у томатов // Биология: от молекулы до биосферы. Материалы III Международной конференции молодых ученых. – Харьков, 2008. – С.302. /Shpilyova T.G., Shchogolev A.S. Fitokhromnaya regulyatsiya rostovykh protsessov u tomatov // Biologiya: ot molekuly do biosfery. Materialy III Mezhdunarodnoy konferentsii molodykh uchenykh. – Kharkov, 2008. – S.302./
- Щеголев А.С., Жмурко В.В. Влияние красного света на содержание углеводов в листьях томатов // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Біологія». – 2008. – №814. – С. 205–210. /Shchegolev A.S., Zhmurko V.V. Vliyaniye krasnogo sveta na sodержaniye uglevodov v list'yahh tomatov // Visnyk Kharkivs'kogo natsional'nogo universytetu imeni V.N.Karazina. Seriya «Biologiya». – 2008. – №814. – S. 205–210./
- Щоголев А., Жмурко В. Вплив червоного світла на активність сахарозофосфатсинтази і сахарозосинтази у листках томатів (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2013. – Вип.61. – С. 208–215. /Shchogolev A., Zhmurko V. Vplyv chervonogo svitla na aktyvnist' sakharozofosfatsyntazy i sakharozosyntazy u lystkakh tomativ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Visnyk L'vivs'kogo universytetu. Seriya biologichna. – 2013. – Vyp.61. – S. 208–215./
- Chen M., Chory J. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development // Trends Cell Biol. – 2011. – Vol.21. – P. 664–671.
- Chincinska I., Liesche J., Krugel U. et al. Sucrose transporter StSUT4 from potato affects flowering, tuberization, and shade avoidance response // Plant Physiol. – 2008. – Vol.146. – P. 515–528.

- Cober E.R., Tanner J.W., Volgend H.D. Genetic control of photoperiod response on early-maturing, near isogenic soybean lines // *Crop Sci.* – 1996. – Vol.36. – P. 601–605.
- Cober E.R., Volgend H.D. Low R:FR light quality delays flowering of E7E7 soybean lines // *Crop Sci.* – 2001. – Vol.41. – P. 1823–1826.
- Cocram J., Jones H., Leigh F.J. et al. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication and sustainable productivity // *J. Exp. Botany.* – 2007. – Vol.58, №6. – P. 1231–1244.
- Franklin K.A., Quail P.H. Phytochrome functions in Arabidopsis development // *J. Exp. Bot.* – 2010. – Vol.61. – P. 11–24.
- Kami C., Lorrain S., Hornitschek P., Fankhauser C. Light-regulated plant growth and development // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2010. – Vol.91. – P. 29–66.
- Lagercrantz U. At the end of the day: a common molecular mechanism for photoperiod responses in plants? // *J. Exp. Bot.* – 2009. – Vol.60, №9. – P. 2501–2515.
- Matsoukas I.G.I., Massiah A.J., Thomas B. Florigenic and antiflorigenic signaling in plants // *Plant Cell Physiol.* – 2012. – Vol.53. – P. 1827–1842.
- Parks B.M. The Red side of photomorphogenesis // *Plant Physiology.* – 2003. – Vol.133. – P. 1437–1444.
- Quail P.H. Phytochromes // *Curr Biol.* – 2010. – Sp.20. – P. 504–507.
- Rockwell N.C., Su Y.S., Lagarias J.C. Phytochrome structure and signaling mechanisms // *Annu Rev. Plant Biol.* – 2006. – Vol.57. – P. 837–858.
- Salome P.A., Michael T.P., Kearns E.V. et al. The out of phase 1 mutant defines a role for PHYB in circadian phase control in Arabidopsis // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol.129. – P.1674–1685.
- Sharkey T.D., Vassey T.L., Vanderveer P.J. et al. Carbon metabolism enzymes and photosynthesis in transgenic tobacco (*Nicotina tabacum* L.) having excess phytochrome // *Planta.* – 1991. – Vol.185. – P. 287–296.
- Van Buskirk E.K., Decker Peter V., Chen Meng Photobodies in light signaling // *Plant Physiology.* – 2012. – Vol.158. – P. 52–60.

Представлено: Ю.Є.Колупасв / Presented by: Yu.Ye.Kolupaev

Рецензент: А.І.Божков / Reviewer: A.I.Bozhkov

Подано до редакції / Received: 01.11.2013