

УЧАСТИЕ ФОТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ ЛИСТЬЕВ *ARABIDOPSIS THALIANA* НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Л.В. Дударева, Е.Г. Рудиковская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, laser@sifibr.irk.ru

Аннотация. Методами хроматографии и масс-спектрометрии изучена динамика содержания фотопротекторных соединений в листьях *Arabidopsis thaliana* под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения. Установлено, что при облучении тканей стимулирующей дозой (3,6 Дж/м²) происходит существенное (в 2-8 раз) увеличение содержания соединений фенольной природы, обладающих фотозащитными свойствами – антоцианов, кемпферола, кверцетина и их гликозидов.

Ключевые слова: кемпферол, кверцетин, антоцианы, He-Ne лазер, *Arabidopsis thaliana*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-278-281

Несмотря на то, что механизмы влияния лазерного излучения низких интенсивностей на растения все еще остаются предметом дискуссии, оно достаточно широко используется в агрокультуре для стимуляции процессов роста и развития в растительной ткани, увеличения всхожести и энергии прорастания семян и, в конечном итоге, для увеличения урожайности культурных растений [Hernandez, 2010]. Большинство исследований такого рода посвящено действию низкоинтенсивного лазерного излучения на ткани микроорганизмов, животных и человека. Для этих объектов определены ключевые структуры в клетках и клеточных органеллах, в которых могут формироваться ответы на действие лазерного излучения [Капу, 2005]. Работ по изучению влияния света лазера на растительные ткани все еще существенно меньше. Растения эволюционно приспособлены к восприятию световой энергии и к ее утилизации в физиологических целях. Помимо хлоропластов, в которых под действием солнечного света протекают фотосинтетические реакции, растительные ткани богаты пигментами-сенситизаторами, выполняющими в клетках растений различные функции, в первую очередь сигнальные. Изучение биологического действия света лазера на растения может представлять интерес не только для выявления механизмов его влияния, но и для исследования закономерностей действия света на растительные клетки, ткани и организмы. Известно, что свет лазера низкой интенсивности с длиной волны 632,8 нм может оказывать действие на физиологические процессы, между которыми отсутствует выраженная взаимосвязь. Следовательно, при реализации действия этого излучения, по-видимому, задействован неспецифический, общий для многих событий в жизни растения механизм. Логично было предположить, что стресс, как неспецифический системный ответ, может являться одним из путей действия низкоинтенсивного излучения на растительные ткани. К настоящему времени установлены основные признаки неспецифической составляющей стресса у растений. Ранее полученные, в том числе нами, данные подтверждают, что действие лазерного излучения низкой интенсивности на растительные объекты на начальном этапе отклика на облучение может вызывать реакцию, подобную стрессовой. Эта реакция проявлялась в характерных для стресса биохимических изменениях в тканях. Показано значительное увеличение количества «стрессовых» аминокислот – пролина, гидроксипролина и некоторых других, повышение содержания первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в облученных каллусах пшеницы,

изменение активности ферментов АТФ-азы и H^+ -пирофосфатазы в вакуолярном соке красной столовой свеклы. Обнаружены существенные изменения в составе, содержании и степени ненасыщенности жирных кислот, в содержании липидов и фитогормонов в каллусной ткани пшеницы *Triticum aestivum* L. Все вышеперечисленные реакции относят к неспецифическим, мало или вообще не зависящим от природы стрессора. По понятным причинам растения в отношении реакций на стрессор отличаются от животных. Для них ответ на воздействие, обеспечивающий долговременную адаптацию, большей частью оказывается зависимым от характера неблагоприятного воздействия. По всей вероятности, по крайней мере, для выращенных в темноте каллусов, при облучении растений низкоинтенсивным светом лазера имеет место избыточная освещенность. Среди абиотических факторов среды влияние избыточного освещения достаточно долго оставалось малоизученным по сравнению с влиянием температуры, засухи и т.п. Реакция растений на свет рассматривалась, как правило, в связи с изучением фотосинтетических процессов. Однако специфической реакцией на это воздействие могут быть изменения как в содержании защитных пигментов фотосинтетического аппарата – каротиноидов, в том числе кислородсодержащих ксантофиллов, так и в содержании других соединений, выполняющих фотозащитные функции в других клеточных компартментах. Известно, что наряду с каротиноидами, алкалоидами и микоспорин-подобными аминокислотами, фотозащитные функции у растений выполняют соединения фенольной природы, такие как антоцианы, кемпферол, кверцетин и их гликозиды [Соловченко, Мерзляк, 2008]. Для того чтобы оценить возможное участие в ответе на облучение светом лазера фотопротекторных соединений, неассоциированных с фотосинтетическим аппаратом и локализованных в других клеточных компартментах – фенольных соединений, необходимо было провести анализ изменений в их содержании после действия низкоинтенсивного лазерного излучения.

В связи с этим, целью представляемой работы был сравнительный анализ динамики изменений содержания фотозащитных соединений фенольной природы (антоцианов, кверцетина и кемпферола и их гликозидов) под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения в листьях *Arabidopsis thaliana* L.. В качестве объектов исследования были использованы 35-дневные растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотип *Columbia*. Растения выращивали в условиях фитотрона при 24 °С день/21 °С ночь, фотопериод – 16 часов. Облучение проводили по разработанному в Институте методу с помощью гелий-неонового лазера, длина волны излучения 632,8 нм, в течение 5 минут, доза облучения при этом составила 3,6 Дж/см². Анализ проводили методами высокоэффективной жидкостной и газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. Как видно из рис. 1. в содержании суммы антоцианов произошли существенные изменения непосредственно после облучения НИЛ, которые сохранялись, по крайней мере, в течение суток после воздействия. В первый момент после облучения содержание антоцианов выросло в более чем в 8 раз и по истечении суток все еще оставалось достоверно более высоким, чем в необлученном контроле. Известно, что антоцианы выполняют в растениях множество функций, включая привлечение опылителей, защиту от действия низких положительных температур, засухи и избыточной инсоляции. Поэтому их также называют "пигментами стресса". Особенности спектров поглощения антоцианов, максимум которых находится в зеленой части видимой области, предопределяют их участие в защите от фотоповреждения интенсивным видимым светом [Соловченко, Мерзляк, 2008].

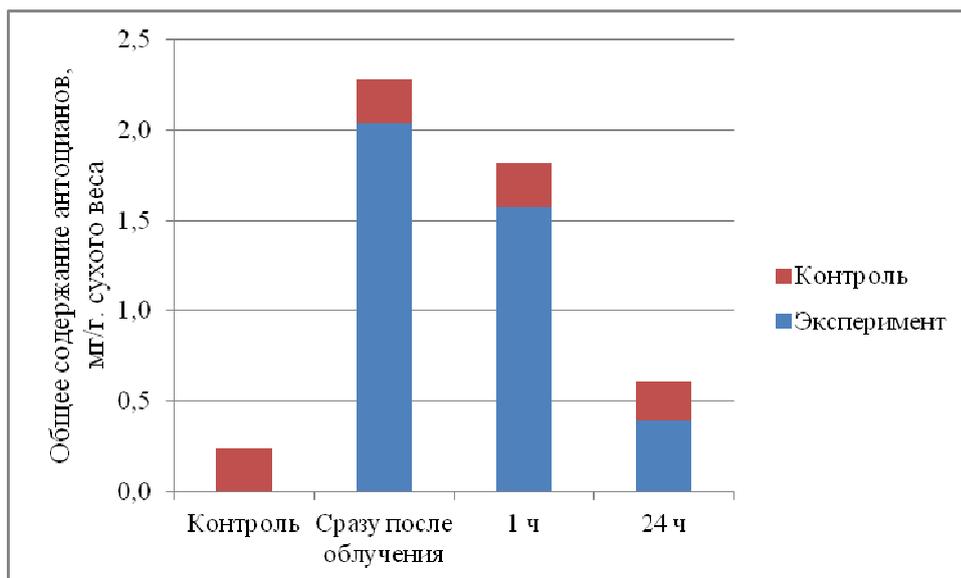


Рис. 1. Динамика изменений общего содержания антоцианов в тканях листьев *Arabidopsis thaliana* после облучения светом лазера (λ -632, 8 нм).

Впечатляющее увеличение содержания антоцианов в листьях арабидопсиса после облучения гелий-неоновым лазером в стимулирующей дозе с большой долей вероятности свидетельствует об активном участии этих соединений в ответной реакции растительной ткани на это воздействие. В содержании водорастворимых флавоноидов кемпферола и кверцетина и их гликозидов в листьях арабидопсиса после облучения также обнаружены заметные изменения (рис. 2.). Сразу после облучения и через 1 час после него содержание кверцетина было значительно выше в опыте, чем в необлученном контроле ($7,2 \pm 0,3$ мкг/г. сух. веса и $3,9 \pm 0,2$ мкг/г. сух. веса, соответственно). Содержание кемпферола, напротив, более чем в три раза уменьшилось в этот же период в облученных образцах по сравнению с контролем (с $10,4 \pm 0,3$ мкг/г. сух. веса до $2,4 \pm 0,2$ мкг/г. сух. веса).

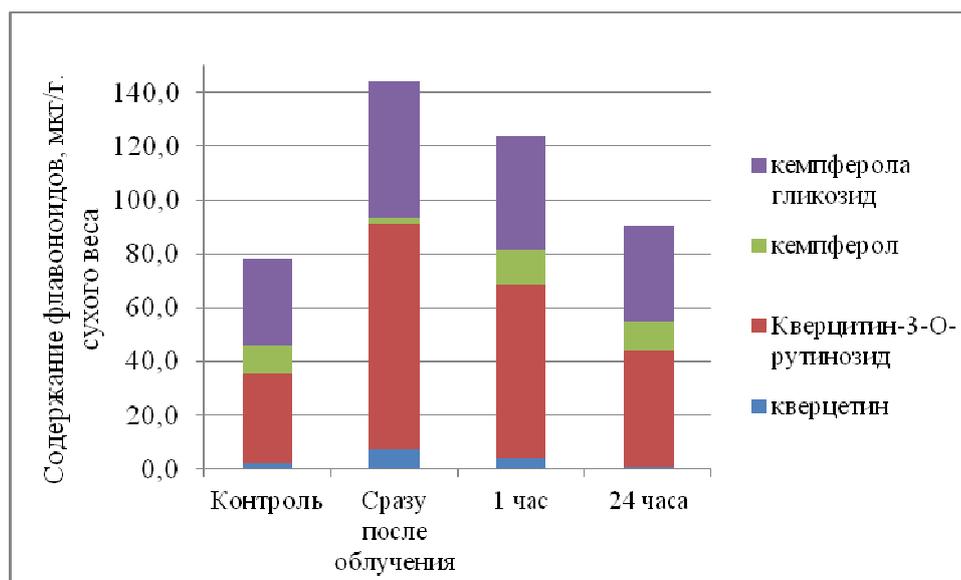


Рис. 2. Динамика изменений содержания кемпферола, кверцетина и их гликозидов в тканях листьев *Arabidopsis thaliana* после облучения светом лазера (λ -632, 8 нм).

Известно, что при избыточной инсоляции в тканях растений происходит увеличение содержания флавоноидов с большим числом ОН-групп [Andersen, 2005]. В наших экспериментах содержание кверцетина (пять ОН-групп) возросло после облучения в 6 раз по сравнению с контролем, в то время как содержание кемпферола (четыре ОН-группы) в 3 раза уменьшилось. Различие, возможно, обусловлено содержанием ОН-групп в фенольном радикале – у кемпферола одна такая группа, а у кверцетина – две. Что касается гликозидов этих двух соединений, изменения в их содержании под влиянием облучения носили сходный характер с агликонами, в присущем им более высоком порядке величин. На основании полученных результатов можно предположить, что низкоинтенсивное лазерное излучение в стимулирующих дозах может быть индуктором синтеза фотопротекторных соединений фенольной природы (флавоноидов, в том числе антоцианов) в тканях листьев арабидопсиса.

Показанное увеличение их содержания при облучении светом лазера низкой интенсивности, вероятно, является одной из специфических ответных реакций растения на это воздействие. Однако, возможно также, что защитная реакция растительной ткани реализуется, по крайней мере, в отношении кемпферола, кверцетина и их гликозидов, как антиоксидантная – преимущественным синтезом соединений с большим числом ОН-групп и двойных связей.

Литература

Кару Т.И. Универсальный клеточный механизм лазерной биостимуляции: фотоактивация фермента дыхательной цепи цитохром-*c*-оксидазы. Современные лазерно-информационные и лазерные технологии: Сб. трудов ИПЛИТ РАН. – М.: Интерконтакт Наука, 2005. – 304 с.

Соловченко А.Е., Мерзляк М.А. Экранизация видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты растений // Физиология растений. – 2008. – Т. 5, № 6. – С. 803–822.

Andersen O.M., Markham K.R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and application. – New York: CRC Press, 2005. – P. 397–441.

Hernandez A.C., Dominguez P.A., Cruz O.A., Ivanov R., Carballo C.A., and Zepeda B.R. Laser in agriculture // Int. Agrophys. – 2010. – V. 2. – P. 407–422.

Kreslavski V.D., Fomina I.R., Los D.A., Carpentier R., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. –Red and near infra-red signaling: hypothesis and perspectives // J. Photochem. Photobiol. – 2012. – V. 13. – P. 190–203.

INVOLVEMENT OF PHOTOPROTECTOR PHENOLIC COMPOUNDS IN THE REACTION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* LEAVES ON THE IMPACT OF LOW-INTENSIVE LASER IRRADIATION

L.V. Dudareva, E.G. Rudikovskaya

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, laser@sifibr.irk.ru

Abstract. The dynamics of the content of photoprotective phenolic compounds in the leaves of *Arabidopsis thaliana* was studied by chromatography and mass spectrometry methods. It has been established that when irradiating tissues with a stimulating dose (3.6 J / m²), the content of phenolic photoprotective compounds – anthocyanins, kaempferol, quercetin and their glycosides increases significantly (by 2-8 times).

Keywords: *kaempferol, quercetin, anthocyanins, He-Ne laser, Arabidopsis thaliana*