

Оригинальная статья / Original article

УДК 577.29

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-251-259>



Исследование роли фоторецепторов у *Arabidopsis thaliana* в регуляции процесса state transitions

© В.И. Бельков*, К.Е. Белогуб**, Е.Ю. Гарник*,
В.И. Тарасенко*, Ю.М. Константинов***

* Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН,
г. Иркутск, Российская Федерация

** Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Российская Федерация

Резюме: Первичное построение фотосинтетического аппарата растений происходит в процессе фотоморфогенеза. Важнейшую роль в инициации и регуляции фотоморфогенеза играют белки-фоторецепторы красного/дальнекрасного (фитохромы) и синего (криптохромы) света. Возбужденные молекулы фитохромов и криптохромов способны взаимодействовать с транскрипционными факторами, изменяя экспрессию ядерных генов, кодирующих белки фотосинтетического аппарата растений. Поскольку свет является непостоянным, варибельным фактором, растения выработали соответствующие адаптационные механизмы, в частности, для защиты своего фотосинтетического аппарата. Механизм state transitions обеспечивает быструю адаптацию фотосинтетического аппарата, направленную на повышение эффективности адсорбции света при имеющихся условиях освещенности, и предотвращение усиленной генерации активных форм кислорода в хлоропластах, способной приводить к фотоокислению и даже гибели клеток. Цель данной работы – выявить роль фоторецепторов – фитохромов А и В, а также криптохромов 1 и 2 в регуляции процесса state transitions у модельного растения *Arabidopsis thaliana*. В качестве исследуемых объектов использовали мутанты арабидопсиса, несущие дефекты по генам фитохромов А и В, криптохромов 1 и 2. В качестве основного метода исследования был использован «голубой нативный» электрофорез в полиакриламидном геле, который позволяет визуализировать state transitions. В ходе исследований было установлено, что данные фоторецепторы не оказывают прямого влияния на редокс-регуляцию механизма state transitions у арабидопсиса. По-видимому, роль этих фоторецепторов в защите фотосинтетического аппарата от избыточной освещенности заключается не в регуляции state transitions, а реализуется более опосредованно, через регуляцию содержания хлорофиллов, каротиноидов и компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, фитохромы, криптохромы, белки светособирающего комплекса, фотосинтетический аппарат

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00800. В работе использовано оборудование ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН (г. Иркутск). Авторы благодарны М.В. Кулинченко, к.б.н., старшему научному сотруднику лаборатории генетической инженерии растений СИФИБР СО РАН, за консультации при выполнении методической части работы.

Для цитирования: Бельков В.И., Белогуб К.Е., Гарник Е.Ю., Тарасенко В.И., Константинов Ю.М. Исследование роли фоторецепторов у *Arabidopsis thaliana* в регуляции процесса state transitions. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. N 2. С. 251–259. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-251-269>

The role of *Arabidopsis thaliana* photoreceptors in regulating the process of state transitions

Vadim I. Belkov*, Kristina E. Belogub**, Elena Yu. Garnik*,
Vladislav I. Tarasenko*, Yuri M. Konstantinov***

* Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS,
Irkutsk, Russian Federation

** Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract: The initial formation of the photosynthetic apparatus in plants occurs during photomorphogenesis. The red/far-red (phytochromes) and blue (cryptochrome) light protein-photoreceptors play the most important role in photomorphogenesis initiation and regulation. The excited phytochrome and cryptochrome molecules can interact with transcription factors, changing the expression of nuclear genes, which encode the proteins of the plant photosynthetic apparatus. Since light is a variable factor, plants have developed appropriate adaptation mechanisms, including their photosynthetic apparatus protection. The mechanism of state transitions ensures a rapid adaptation of the photosynthetic apparatus. This adaptation mechanism increases the adsorption efficiency under current light conditions and prevents intensive generation of active forms of oxygen in chloroplasts, which leads to photo-oxidation and even cell death. This work aims to determine the role of photoreceptors – phytochromes A and B, as well as cryptochrome 1 and 2 – in regulating the process of state transitions in the *Arabidopsis thaliana* model plant. *Arabidopsis* mutants with the defects on A and B phytochromes and cryptochrome 1 and 2 genes were used as the research objects. The blue native electrophoresis in polyacrylamide gel was used to visualise state transitions. It was found that these photoreceptors had no direct effect on the redox-regulation of the state transitions mechanism in *Arabidopsis*. Presumably, these photoreceptors protect the photosynthetic apparatus from excessive light not by regulating the state transitions but indirectly, through regulating the chlorophyll, carotenoid and antioxidant components content.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, phytochromes, cryptochrome, light-harvesting complex protein, photosynthetic apparatus

Acknowledgement: This work was supported by the RFBR no. 18-34-00800. Equipment of the Bioanalitika Center for Collective Use, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, was used in this study. The authors are grateful to Senior Researcher of Plant Genetic Engineering Laboratory, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS M.V. Koulinchenko for consultations when performing the methodological part of the work.

For citation: Belkov VI, Belogub KE, Garnik EYu, Tarasenko VI, Konstantinov YuM. The role of *Arabidopsis thaliana* photoreceptors in regulating the process of state transitions. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(2):251–259. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-2-251-259>

ВВЕДЕНИЕ

Свет является наиболее широко изученным абиотическим фактором, влияющим на организм растений. На ранних этапах жизни растений он стимулирует прорастание семян и запускает процессы роста и развития, инициирует фотоморфогенез [1]. Фотоморфогенез инициируется регуляторными сигналами, которые опосредуются белками-фоторецепторами. Фоторецепторы растений представляют собой белковые молекулы, ассоциированные с хромофорами (фитохромобилин – для фитохромов, и флавинадениндинуклеотид – для криптохромов). Когда хромофор воспринимает квант света соответствующей длины волны, конформация белковой части фоторецептора изменяется, что приводит к активации сети регуляторных сигналов внутри клеток. При действии на растения красного света фотоактивированные фитохромы А и В типа переходят в активную форму и транспортируются в ядро, где ингибируют транскрипционные факторы-репрессоры фотоморфогенеза – преимущественно белки семейства PIF (*phytochrome interaction factors*) [2]. Криптохромы дополняют функции фитохромов. Локализованные в ядре криптохромы 1 и 2 возбуждаются синим светом и подавляют транскрипционные факторы, репрессирующие экспрессию генов, продукты которых активно участвуют в фотоморфогенезе (например, HY5 и CO (запускает цветение)). Происходит накопление

белка HY5, который вызывает «выключение» убиквитин-лигазного комплекса CUL4-DDB1 E3, деактивирующего фитохромы А и В. Таким образом, без активированных криптохромов происходит репрессия фотоморфогенеза [3, 4].

На стадии взрослого растения фоторецепторы участвуют в регуляции процессов цветения, синдрома избегания тени, регуляции циркадных ритмов и др. Функционирование электрон-транспортной цепи хлоропластов (хлЭТЦ) неизбежно приводит к генерации активных форм кислорода, в результате чего может произойти повреждение этих органелл с последующим запуском программируемой гибели клеток. Для защиты своего фотосинтетического аппарата от фотодеструкции растения способны формировать долгосрочные (long-term) и краткосрочные (short-term) механизмы защиты. Долгосрочные адаптационные процессы инициируются после нескольких дней изменения освещенности и приводят к качественным изменениям белкового состава мембран тилакоидов, а также количества хлорофиллов и каротиноидов [5] через изменение экспрессии соответствующих генов. К краткосрочным механизмам относится процесс, описанный в литературе как *state transitions*, который проявляется через несколько минут после изменения условий освещенности [6]. Последовательное расположение фотосистем на тилакоидной мембране обеспечивает их эффективную

работу при условии, что они транспортируют возбужденные электроны без возникновения перенапряжения участков хлЭТЦ. Однако в естественных условиях часто возникает преобладание активности одной фотосистемы над другой, что и приводит к дисбалансу в скорости потока электронов по хлЭТЦ, вызывая угрозу фотоокисления переносчиков электронов и самих фотосистем. *State transitions* – это процесс обратимого взаимодействия мобильного пула белков внешних антенн светособирающего комплекса II (*light-harvesting complex II*, LHCII) с одной из фотосистем в результате перемещения белков LHCII.

Процесс *state transitions* можно разделить на два этапа – *состояние 1* и *состояние 2*. При *состоянии 1*, когда фотосистема II (ФСII) более активно улавливает кванты света, чем фотосистема (ФСI), пул пластохинонов становится восстановленным. В результате возникает редокс-сигнал, который передается на мембраносвязанную протеинкиназу STN7 (*state transitions 7*), которая затем фосфорилирует белки внешней антенны LHCII, связанной с ФСII [7]. Часть этой антенны отсоединяется от ФСII и переносится на ФСI, повышая ее способность к светоабсорбции (*состояние 2*), тем самым способствуя более равномерному распределению потока электронов по хлЭТЦ. В результате формируется *state transitions*-суперкомплекс ФСI-LHCII. Как только пул пластохинонов возвращается в окисленное состояние и STN7 деактивируется, суперкомплекс ФСI-LHCII распадается под действием протеинфосфатазы TAP38 (*thylakoid-associated phosphatase 38*), что приводит к возвращению системы к *состоянию 1* и взаимодействию LHCII с ФСII. Переключение между состояниями процесса *state transitions* может быть вызвано действием на растения ингибитора 3-(3,4-дихлорофенил)-1,1-диметилмочевины (DCMU, вызывает *состояние 1* на свету) или вследствие экспозиции растений на свету с длиной волны, специфически активирующей ФСI (дальнекрасный спектр) или ФСII (синий и красный спектр) [8, 9].

Имеются сообщения о возможном участии фоторецепторов в поддержании защиты фотосинтетического аппарата растений при действии ультрафиолета. Ультрафиолет вызывает усиленную генерацию активных форм кислорода, что приводит к повреждениям фотосинтетического аппарата растений. Криптохромы активируются при действии ультрафиолета А (320–400 нм) и могут играть роль в защитном ответе, однако механизм действия до конца не исследован [10]. По данным, представленным в работе В.Д. Креславского с соавторами, фитохромы А и В могут участвовать в защите фотосинтетического аппарата от ультрафиолета В (280–320 нм) [11]. В работе А.Ю. Худяковой с соавторами представлены результаты исследования растений линии двойного мутанта *phyAphyB* арабидопсиса, которые

имеют дефекты генов, кодирующих фитохромы А и В. Было показано, что в контрольных условиях (белый свет) большинство параметров фотосинтеза (F_v/F_m , F_v/F_0 , D_1/RC , ABS/RC , PI_{ABS}) у растений дикого типа и мутантов *phyAphyB* не различались. Эти мутанты имели пониженное содержание фотосинтетических и ультрафиолет-абсорбирующих пигментов, а также сниженное значение скорости фотосинтеза P_n [12]. По-видимому, фитохромы С, D и Е, а также криптохромы поддерживают функциональную активность фотосинтетического аппарата у этих мутантов при белом свете. После 30-минутной экспозиции в присутствии ультрафиолета В у двойных мутантов *phyAphyB* отмечено ухудшение показателей активности ФСII в большей степени, чем у линии дикого типа, что указывает на роль фитохромов А и В в защите фотосинтетического аппарата от фотоокисления. Аналогичную тенденцию к понижению функциональной активности ФСII у двойного мутанта *phyAphyB* наблюдали после экспозиции растений при красном свете (660 нм), что объяснили фотоингибированием фотосинтетического аппарата вследствие отсутствия активности фитохромов и криптохромов (криптохромы не активируются при красном свете) [12].

Повышение устойчивости растений к определенным стрессовым факторам может достигаться после накопления физиологически активной формы фитохрома [4]. Следствием этого накопления является активация антиоксидантных ферментов – каталазы и пероксидазы, а также стимуляция синтеза низкомолекулярных оксидантов – каротиноидов и флавоноидов. Таким образом, повышение антиоксидантной активности является одной из защитных реакций растений, которая возникает в ответ на действие красного света на фотосинтетический аппарат. В результате фоторецепторы (преимущественно фитохромы В) выступают не только в качестве светулавливающих молекул, но и компонентов антиоксидантной системы [11].

Остается неизученным вопрос о роли фоторецепторов в регуляции *state transitions* как механизма краткосрочной адаптации фотосинтетического аппарата к изменениям освещенности. Поскольку нет никаких данных об особенностях *state transitions* у мутантов по фитохромам А и В (*phyA*, *phyB*), а также криптохромам 1 и 2 (*cry1*, *cry2*), представляет интерес исследование условий формирования суперкомплекса ФСI-LHCII у этих мутантов в разных условиях освещенности.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования и условия экспериментов. Семена *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа *Landsberg erecta* (*Ler*), а также гомозиготных линий мутантов по генам фитохромов А и В (*phyA-201*, локус AT1G09570 (далее *phyA*);

phyB-9, локус AT2G18790 (далее *phyB*)), криптохромов 1 и 2 (*hy4-2.23N*, локус AT4G08920 (далее *cry1*); *cry2-1*, локус AT1G04400 (далее *cry2*)) и *state transition7* (*stn7-1*, локус AT1G68830 (далее *stn7*)) были получены из Центра биологических ресурсов арабидопсиса (Государственный университет Огайо, США).

Семена стерилизовали в растворе, содержащем 70% этанола и 0,05% Triton X-100, в течение 8 мин, трижды промывали стерильной водой и выращивали стерильно на чашках Петри. Питательная среда содержала: минеральные соли (Murashige, Skoog, 1962) – половинный состав; фитогель («Sigma-Aldrich», США) – 0,8%; сахароза («Helicon», Россия) – 2%. После стратификации при 4 °С в течение трех суток чашки устанавливали в вертикальном положении и выращивали растения 20 суток при температуре 23 °С при освещенности 120 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ и длине светового дня 16 ч. Эксперименты проводили на 21-й день после стратификации.

Растения арабидопсиса линий экотипа *Ler* и мутантов *phyA*, *phyB*, *cry1*, *cry2* и *stn7* экспонировали при белом свете (120 мкмоль·м⁻²·с⁻¹) 4 ч, после чего помещали в темноту или под свет разного спектрального состава на 1 ч. В качестве источников освещения использовали светодиоды SMD-5050 («Рубикон», Россия) синего (465 нм), красного (630 нм) и дальнего красного (740 нм) света, а также лампы дневного света Philips TL-D 36W/54-765, цветовая температура – 6200 К (белый свет). В экспериментах с применением 3-(3,4-дихлорофенил)-1,1-диметилмочевины (DCMU) («Sigma-Aldrich», Германия) растения выдерживали 4 ч при белом свете, после чего обрабатывали 20 мкМ раствором DCMU и выдерживали при белом, красном или синем свете 2 ч. Все эксперименты были проведены не менее чем в трех биологических повторностях.

Выделение тилакоидов. Навеску листьев 180–200 мг растирали в охлажденной на льду ступке с 2 мл буфера СВ (сорбитол – 400 мМ, EDTA – 10 мМ, NaHCO₃ – 10 мМ, Hepes – 40 мМ, MgCl₂ – 5 мМ в присутствии 10 мМ NaF), pH – 7,8 [13, 14]. Затем фильтровали через 4 слоя ткани Miracloth (Calbiochem, Канада) и центрифугировали в течение 7 мин («Eppendorf», Германия) при 500 g. Супернатант сливали, ресуспендировали осадок в 500 мкл буфера СВ. Образцы хранили при -80 °С.

Солюбилизация мембран тилакоидов дигитонином. Солюбилизацию мембран проводили согласно методике, представленной в работе [14]. Биоматериал солюбилизировали в 100 мл буфера (5 мМ NaCl, 2 мМ аминокaproновой кислоты, 1 мМ ЭДТА, 1,5% дигитонина), инкубировали на льду в течение 30 мин, периодически аккуратно перемешивая, затем центрифугировали («Eppendorf», Германия) в течение 30 мин при 16100 g. В супернатант, обогащенный пластид-

ными комплексами, добавляли 5%-й (в/о) раствор красителя Serva Blue G в соотношении 1:4.

«Голубой нативный» электрофорез в полиакриламидном геле (BN-PAGE). В качестве разделяющего геля использовали линейный градиент, 5–16% акриламида, концентрирующий гель содержал 4% акриламида. Состав катодного буфера в электрофоретической камере: 50 мМ трицин, 15 мМ бис-трис, 0,02% Кумасси G-250, pH = 7,0; анодного – 50 мМ бис-трис, pH = 7,0 [15]. Солюбилизованная проба содержала 15–20 мкг хлорофиллов. Содержание хлорофиллов оценивали согласно [16]. Электрофоретическая миграция комплексов проходила при 4 °С до вхождения комплексов в разделяющий гель при 60 В, затем 6 ч – при 150 В. По окончании электрофореза гель фиксировали в 13%-й трихлоруксусной кислоте в течение 40 мин. Затем гель окрашивали в растворе, содержащем 5%-й раствор Serva Blue G в 10%-й уксусной кислоте. Отмывку от красителя проводили в растворе, содержащем 10% уксусной кислоты и 12,5% изопропилового спирта.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для подтверждения локализации суперкомплекса ФСII-LHCII на гелях, полученных методом BN-PAGE, использовали растения линии дикого типа *Ler* и мутанта *stn7* в качестве отрицательного контроля. Этот инсерционный мутант по гену протеинкиназы STN7 лишен возможности формировать суперкомплекс ФСII-LHCII. На электрофореграмме (рис. 1) показано, что после экспозиции при белом свете у растений линии *Ler* (трек № 2) отмечается формирование банды, который соответствует суперкомплексу ФСII-LHCII, образуемому в *состоянии 2*, согласно литературным данным [17]. В то же время после экспозиции в темноте формирование этой банды не наблюдается (трек № 1), что указывает на возвращение *state transitions* в *состояние 1*. У растений линии *stn7* отмечается отсутствие банды как при белом свете, так и в темноте (треки № 4 и № 3).

На рис. 2 и 3 представлены электрофореграммы, отображающие формирование суперкомплекса ФСII-LHCII у мутантных линий *phyA*, *phyB*, *cry1* и *cry2* в сравнении с линией *Ler* после 1 ч экспозиции под синим, красным и дальнекрасным светом. У растений контрольной линии *Ler* происходит сохранение суперкомплекса под действием синего и красного спектра света (*состояние 2*), и отмечается его расформирование в присутствии дальнекрасного света (*состояние 1*). У исследуемых мутантов фитохромов и криптохромов наблюдается *состояние 2* при синем и красном свете и *состояние 1* – при дальнекрасном, аналогично контрольным растениям линии *Ler*. Это позволяет предположить отсутствие прямой роли сигналов с участием

данных фоторецепторов в регуляции краткосрочной адаптации в виде процесса *state transitions*.

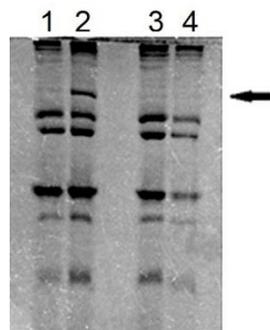


Рис. 1. Визуализация суперкомплекса ФСІ-LHCII у линий экотипа *Ler* и мутанта *stn7* при белом свете: 1 – *Ler*, экспозиция 1 ч в темноте; 2 – *Ler* при белом свете; 3 – *stn7*, экспозиция – 1 ч в темноте; 4 – *stn7* при белом свете (стрелкой обозначено положение суперкомплекса ФСІ-LHCII, наличие этого суперкомплекса означает *состояние 2*)

Fig. 1. Visualization of the PSI-LHCII supercomplex in *Ler* ecotype and *stn7* mutant plants in white light: 1 – *Ler*, 1 hour of the dark; 2 – *Ler*, white light exposition; 3 – *stn7*, 1 hour of the dark; 4 – *stn7*, white light exposition (the arrow indicates the position of the PSI-LHCII supercomplex, the presence of this supercomplex indicates *State 2*)

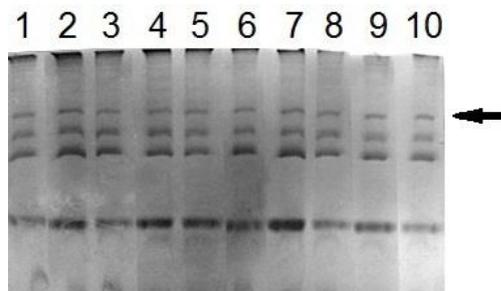


Рис. 2. Визуализация суперкомплекса ФСІ-LHCII у линий *Ler*, *phyA*, *phyB*, *cry1* и *cry2* после экспозиции при синем или красном свете: 1 – *Ler*, красный свет; 2 – *phyA*, красный свет; 3 – *phyB*, красный свет; 4 – *cry1*, красный свет; 5 – *cry2*, красный свет; 6 – *Ler*, синий свет; 7 – *phyA*, синий свет; 8 – *phyB*, синий свет; 9 – *cry1*, синий свет; 10 – *cry2*, синий свет. Время экспозиции – 1 ч (стрелкой обозначено положение суперкомплекса ФСІ-LHCII, наличие этого суперкомплекса означает *состояние 2*)

Fig. 2. Visualization of the PSI-LHCII supercomplex in *Ler*, *phyA*, *phyB*, *cry1* and *cry2* plants after exposure to blue or red light: 1 – *Ler*, red light; 2 – *phyA*, red light; 3 – *phyB*, red light; 4 – *cry1*, red light; 5 – *cry2*, red light; 6 – *Ler*, blue light; 7 – *phyA*, blue light; 8 – *phyB*, blue light; 9 – *cry1*, blue light; 10 – *cry2*, blue light. The exposure time is 1 hour (the arrow indicates the position of the PSI-LHCII supercomplex, the presence of this supercomplex indicates *State 2*)

Для подтверждения полученного результата растения линий *Ler*, *phyA*, *phyB*, *cry1* и *cry2*, выдержанные при белом свете в течение 4 ч, обрабатывали ингибитором DCMU и экспонировали 2 ч при белом, синем или красном свете (рис. 4).

Отмечен переход в *состояние 1* у всех образцов, обработанных ингибитором DCMU, что указывает на сохранение функционирования ТАР38 при редокс-регуляции *state transitions* у исследуемых мутантов.

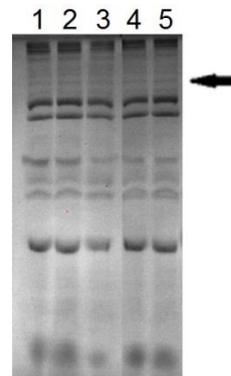


Рис. 3. Визуализация суперкомплекса ФСІ-LHCII у линий *Ler*, *phyA*, *phyB*, *cry1* и *cry2* после экспозиции при дальнекрасном свете: 1 – *Ler*; 2 – *phyA*; 3 – *phyB*; 4 – *cry1*; 5 – *cry2*. Время экспозиции – 1 ч (стрелкой обозначено положение суперкомплекса ФСІ-LHCII, наличие этого суперкомплекса означает *состояние 2*)

Fig. 3. Visualization of the PSI-LHCII supercomplex in *Ler*, *phyA*, *phyB*, *cry1* and *cry2* plants after exposure to far-red light: 1 – *Ler*; 2 – *phyA*; 3 – *phyB*; 4 – *cry1*; 5 – *cry2*. The exposure time is 1 hour (the arrow indicates the position of the PSI-LHCII supercomplex, the presence of this supercomplex indicates *State 2*)

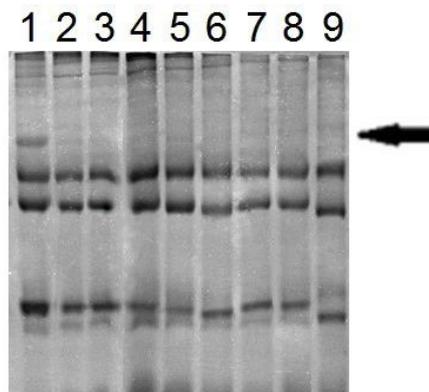


Рис. 4. Визуализация суперкомплекса ФСІ-LHCII у линий *phyA*, *phyB*, *cry1* и *cry2* после обработки DCMU и экспозиции при синем или красном свете: 1 – *Ler*, контроль при белом свете, без обработки; 2 – *phyA*, синий свет; 3 – *phyB*, синий свет; 4 – *cry1*, синий свет; 5 – *cry2*, синий свет; 6 – *phyA*, красный свет; 7 – *phyB*, красный свет; 8 – *cry1*, красный свет; 9 – *cry2*, красный свет. Время экспозиции – 2 ч (стрелкой обозначено положение суперкомплекса ФСІ-LHCII, наличие этого суперкомплекса означает *состояние 2*)

Fig. 4. Visualization of the PSI-LHCII supercomplex in *Ler*, *phyA*, *phyB*, *cry1* and *cry2* after DCMU treatment and exposure to blue or red light: 1 – *Ler*, white light control, no treatments; 2 – *phyA*, blue light; 3 – *phyB*, blue light; 4 – *cry1*, blue light; 5 – *cry2*, blue light; 6 – *phyA*, red light; 7 – *phyB*, red light; 8 – *cry1*, red light; 9 – *cry2*, red light. The exposure time is 2 hours (the arrow indicates the position of the PSI-LHCII supercomplex, the presence of this supercomplex indicates *State 2*)

Ранее были проведены исследования мутантов *phyA*, *phyB*, *cry1* и *cry2* в условиях долгосрочной адаптации фотосинтетического аппарата к изменению условий освещенности [18]. Растения выращивали при белом свете 10 суток, затем перемещали на свет, специфичный для ФС I или ФС II на 6 суток, после чего оценивали параметры фотосинтеза методом ПАМ-флуорометрии. Поскольку значимых различий между мутантами и растениями дикого типа в этих условиях зафиксировано не было, то авторы работы сделали вывод, что фитохромы и криптохромы напрямую не причастны к возникновению и передаче сигналов, характерных для долгосрочных адаптационных процессов фотосинтетического аппарата. Однако роль фоторецепторов в формировании краткосрочных ответов ранее не исследовалась. Полученные в настоящей работе данные указывают на отсутствие прямого участия фитохромов А и В и криптохромов 1 и 2 в процессах краткосрочной адаптации фотосинтетического аппарата (*state transitions*) у растений. Влияние этих фоторецепторов на адаптацию фотосинтетиче-

ского аппарата к неоптимальным условиям освещенности [5] осуществляется, по-видимому, не специфически, а через универсальные механизмы, например, участие в антиоксидантной защите [19–21]. Мутации по фитохромам А или В и криптохромам 1 или 2 делают растения более подверженными действию стресс-факторов, снижают уровень хлорофиллов, каротиноидов, целостность хлоропластов при старении, а также усиливают окисление липидов [12, 22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследована роль фоторецепторов синего и красного света – криптохромов и фитохромов, в регуляции краткосрочной адаптации фотосинтетического аппарата у арабидопсиса методом BN-PAGE. Полученные данные указывают, что эти фоторецепторы не участвуют в регуляции *state transitions* под действием синего, красного или дальнего красного света. Полученные данные дополняют предыдущие исследования о роли фоторецепторов в долгосрочных адаптационных ответах [18].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Han X., Tohge T., Lalor P., Dockery P., Devaney N., Esteves-Ferreira A.A., et al. Phytochrome A and B regulate primary metabolism in *Arabidopsis* leaves in response to light // *Frontiers in Plant Science*. 2017. Vol. 8. P. 1394. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01394>
2. Paik I., Huq E. Plant photoreceptors: Multifunctional sensory proteins and their signaling networks // *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2019. Vol. 92. P. 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.03.007>
3. Ma D., Li X., Guo Y., Chu J., Fang S., Yan C., et al. Cryptochrome 1 interacts with PIF4 to regulate high temperature-mediated hypocotyl elongation in response to blue light // *PNAS*. 2016. Vol. 113. Issue 1. P. 224–229. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511437113>
4. Kreslavski V.D., Los D.A., Schmitt F.-J., Zharmukhamedov S.K., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. The impact of the phytochromes on photosynthetic processes // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2018. Vol. 1859. Issue 5. P. 400–408. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.03.003>
5. Colombo M., Suorsa M., Rossi F., Ferreri R., Tadini L., Barbato R., et al. Photosynthesis control: an underrated short-term regulatory mechanism essential for plant viability // *Plant Signaling & Behavior*. 2016. Vol. 11. Issue 4. e1165382 (6 p.). <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1165382>
6. Dietzel L., Brautigam K., Pfannschmidt T. Photosynthetic acclimation: state transitions and adjustment of photosystem stoichiometry–functional relationships between short-term and long-term light quality acclimation in plants // *FEBS Journal*. 2008. Vol. 275. Issue 6. P. 1080–1088. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06264.x>
7. Caffari S.A., Tibiletti T., Jennings R., Santabarbara S. A comparison between plant photosystem I and photosystem II architecture and functioning // *Current Protein and Peptide Science*. 2014. Vol. 15. Issue 4. P. 296–331. <https://doi.org/10.2174/1389203715666140327102218>
8. Wunder T., Liu Q., Aseeva E., Bonardi V., Leister D., Pribil M. Control of STN7 transcript abundance and transient STN7 dimerisation are involved in the regulation of STN7 activity // *Planta*. 2013. Vol. 237. Issue 2. P. 541–558. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1775-y>
9. Rochaix J.-D., Lemeille S., Shapiguzov A., Samol I., Fucile G., Willig A., et al. Protein kinases and phosphatases involved in the acclimation of the photosynthetic apparatus to a changing light environment // *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences*. 2012. Vol. 367. Issue 1608. P. 3466–3474. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0064>
10. Verdaguer D., Jansen M.A.K., Llorens L., Morales L.O., Neugart S. UV-A radiation effects on higher plants: exploring the known unknown // *Plant Science*. 2017. Vol. 255. P. 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.11.014>
11. Kreslavski V.D., Lyubimov V.Yu., Shirshikova G.N., Shmarev A.N., Kosobryukhov A.A., Schmitt F.-J., et al. Preillumination of lettuce seedlings with red light enhances the resistance of photosynthetic apparatus to UV-A // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2013. Vol. 122. P. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.02.016>
12. Khudyakova A.Yu., Kreslavski V.D., Shirshikova G.N., Zarmukhamedov S.K., Kosobryukhov

A.A., Allakhverdiev S.I. Resistance of *Arabidopsis thaliana* L. photosynthetic apparatus to UV-B is reduced by deficit of phytochromes B and A // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2017. Vol. 169. P. 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.photobiol.2017.02.024>

13. Aronsson H., Jarvis P. A simple method for isolating import-competent *Arabidopsis* chloroplasts // FEBS Letters. 2002. Vol. 529. Issue 2-3. P. 215–220. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(02\)03342-2](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)03342-2)

14. Pribil M., Pesaresi P., Hertle A., Barbato R., Leister D. Role of plastid protein phosphatase TAP38 in LHCII dephosphorylation and thylakoid electron flow // PLoS Biology. 2010. Vol. 8. Issue 1. e1000288 (12 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000288>

15. Nijtmans G.J., Henderson N.S., Holt I.J. Blue native electrophoresis to study mitochondrial and other protein complexes // Methods. 2002. Vol. 26. Issue 4. P. 327–334. [https://doi.org/10.1016/S1046-2023\(02\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00038-5)

16. Ni Z., Kim E.-D., Ha M., Lackey E., Liu J., Zhang Y., et al. Altered circadian Rhythms regulate growth vigour in hybrids and allopolyploids // Nature. 2009. Vol. 457. Issue 7227. P. 327–331. <https://doi.org/10.1038/nature07523>

17. Wunder T., Liu Q., Aseeva E., Bonardi V., Leister D., Pribil M. Control of STN7 transcript abundance and transient STN7 dimerisation are involved in the regulation of STN7 activity // Planta. 2013. Vol. 237. P. 541–558. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1775-y>

s00425-012-1775-y

18. Fey V., Wagner R., Brautigam K., Wirtz M., Hell R., Dietzmann A., et al. Retrograde plastid redox signals in the expression of nuclear genes for chloroplast proteins of *Arabidopsis thaliana* // The Journal of Biological Chemistry. 2005. Vol. 280. Issue 7. P. 5318–5328. <https://doi.org/10.1074/jbc.M406358200>

19. Carvalho R.F., Campos M.L., Azevedo R.A. The role of phytochrome in stress tolerance // Journal of Integrative Plant Biology. 2011. Vol. 53. Issue 12. P. 920–929. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01081.x>

20. Kreslavski V.D., Kosobryukhov A.A., Schmitt F.-J., Semenova G.A., Shirshikova G.N., Khudyakova A.Y., et al. Photochemical activity and the structure of chloroplasts in *Arabidopsis thaliana* L. mutants deficient in phytochrome A and B // Protoplasma. 2017. Vol. 254. Issue 3. P. 1283–1293. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-1020-9>

21. Casal J.J. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade // Annual Review of Plant Biology. 2013. Vol. 64. P. 403–427. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120221>

22. Rusaczek A., Czarnocka W., Kacprzak S., Witon D., Slesak I., Szechynska-Hebda M., et al. Role of phytochromes A and B in the regulation of cell death and acclimatory responses to UV stress in *Arabidopsis thaliana* // Journal of Experimental Botany. 2015. Vol. 66. Issue 21. P. 6679–6695. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv375>

REFERENCE

1. Han X, Tohge T, Lalor P, Dockery P, Devaney N, Esteves-Ferreira AA, et al. Phytochrome A and B regulate primary metabolism in *Arabidopsis* leaves in response to light. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:1394. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01394>

2. Paik I, Huq E. Plant photoreceptors: Multifunctional sensory proteins and their signaling networks. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2019;92:114–121. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.03.007>

3. Ma D, Li X, Guo Y, Chu J, Fang S, Yan C, et al. Cryptochrome 1 interacts with PIF4 to regulate high temperature-mediated hypocotyl elongation in response to blue light. *PNAS*. 2016;113(1):224–229. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511437113>

4. Kreslavski VD, Los DA, Schmitt F.-J., Zharmukhamedov SK, Kuznetsov VV, Allakhverdiev SI. The impact of the phytochromes on photosynthetic processes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2018;1859(5):400–408. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.03.003>

5. Colombo M, Suorsa M, Rossi F, Ferreri R, Tadini L, Barbato R, et al. Photosynthesis control: an underrated short-term regulatory mechanism essential for plant viability. *Plant Signaling & Behavior*. 2016;11(4):e1165382 (6 p.). <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1165382>

10.1080/15592324.2016.1165382

6. Dietzel L, Brautigam K, Pfannschmidt T. Photosynthetic acclimation: state transitions and adjustment of photosystem stoichiometry–functional relationships between short-term and long-term light quality acclimation in plants. *FEBS Journal*. 2008; 275(6):1080–1088. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06264.x>

7. Caffari SA, Tibiletti T, Jennings R, Santabarbara S. A comparison between plant photosystem I and photosystem II architecture and functioning. *Current Protein and Peptide Science*. 2014;15(4):296–331. <https://doi.org/10.2174/1389203715666140327102218>

8. Wunder T, Liu Q, Aseeva E, Bonardi V, Leister D, Pribil M. Control of STN7 transcript abundance and transient STN7 dimerisation are involved in the regulation of STN7 activity. *Planta*. 2013;237(2):541–558. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1775-y>

9. Rochaix J-D, Lemeille S, Shapiguzov A, Samol I, Fucile G, Willig A, et al. Protein kinases and phosphatases involved in the acclimation of the photosynthetic apparatus to a changing light environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B. Biological Sciences*. 2012;367(1608):3466–3474. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0064>

11. Kreslavski VD, Lyubimov VYu, Shirshikova GN, Shmarev AN, Kosobryukhov AA, Schmitt FJ, et

al. Preillumination of lettuce seedlings with red light enhances the resistance of photosynthetic apparatus to UV-A. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2013;122:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.02.016>

12. Khudyakova AYu, Kreslavski VD, Shirshikova GN, Zarmukhamedov SK, Kosobryukhov AA, Allakhverdiev SI. Resistance of *Arabidopsis thaliana* L. photosynthetic apparatus to UV-B is reduced by deficit of phytochromes B and A. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2017;169:41–46. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.02.024>

13. Aronsson H, Jarvis P. A simple method for isolating import-competent *Arabidopsis* chloroplasts. *FEBS Letters*. 2002;529(2-3):215–220. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)03342-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03342-2)

14. Pribil M, Pesaresi P, Hertle A, Barbato R, Leister D. Role of plastid protein phosphatase TAP38 in LHCII dephosphorylation and thylakoid electron flow. *PLoS Biology*. 2010;8(1):e1000288 (12 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000288>

15. Nijtmans GJ, Henderson NS, Holt IJ. Blue native electrophoresis to study mitochondrial and other protein complexes. *Methods*. 2002;26(4):327–334. [https://doi.org/10.1016/S1046-2023\(02\)00038-5](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00038-5)

16. Ni Z, Kim E-D, Ha M, Lackey E, Liu J, Zhang Y, et al. Altered circadian Rhythms regulate growth vigour in hybrids and allopolyploids. *Nature*. 2009;457(7227):327–331. <https://doi.org/10.1038/nature07523>

17. Wunder T, Liu Q, Aseeva E, Bonardi V, Leister D, Pribil M. Control of STN7 transcript abundance and transient STN7 dimerisation are involved in the regulation of STN7 activity. *Planta*. 2013;237:541–558. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1775-y>

18. Fey V, Wagner R, Brautigam K, Wirtz M, Hell R, Dietzmann A, et al. Retrograde plastid redox signals in the expression of nuclear genes for chloroplast proteins of *Arabidopsis thaliana*. *The Journal of Biological Chemistry*. 2005;280(7):5318–5328. <https://doi.org/10.1074/jbc.M406358200>

19. Carvalho RF, Campos ML, Azevedo RA. The role of phytochrome in stress tolerance. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2011;53(12):920–929. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01081.x>

20. Kreslavski VD, Kosobryukhov AA, Schmitt F-J, Semenova GA, Shirshikova GN, Khudyakova AY, et al. Photochemical activity and the structure of chloroplasts in *Arabidopsis thaliana* L. mutants deficient in phytochrome A and B. *Protoplasma*. 2017;254(3):1283–1293. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-1020-9>

21. Casal JJ. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. *Annual Review of Plant Biology*. 2013;64:403–427. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120221>

22. Rusaczonok A, Czarnocka W, Kacprzak S, Witon D, Slesak I, Szechynska-Hebda M, et al. Role of phytochromes A and B in the regulation of cell death and acclimatory responses to UV stress in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(21):6679–6695. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv375>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бельков Вадим Игоревич,

к.б.н., младший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ e-mail: anvad.irk@rambler.ru

Белогуб Кристина Евгеньевна,

студентка,
Иркутский государственный университет,
664033, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: kristina200298@yandex.ru

Гарник Елена Юрьевна,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: elga74@yandex.ru

Тарасенко Владислав Игоревич,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vadim I. Belkov,

Cand. Sci. (Biology), Junior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ e-mail: anvad.irk@rambler.ru

Kristina E. Belogub,

Student,
Irkutsk State University;
1, K. Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: kristina200298@yandex.ru

Elena Yu. Garnik,

Cand. Sci. (Biology), Senior Scientist,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: elga74@yandex.ru

Vladislav I. Tarasenko,

Cand. Sci. (Biology), Senior Scientist,
Siberian Institute of Plant Physiology

и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
e-mail: vslav@inbox.ru

Константинов Юрий Михайлович,
д.б.н., профессор, заведующий лабораторией
генетической инженерии растений,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН;
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
профессор,
Иркутский государственный университет,
664033, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1,
Российская Федерация,
e-mail: yukon@sifibr.irk.ru

Заявленный вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта ин-
тересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

*Поступила в редакцию 13.08.2020.
Одобрена после рецензирования 19.10.2020.
Принята к публикации 31.05.2021.*

and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: vslav@inbox.ru

Yuri M. Konstantinov,
Dr. Sci. (Biology), Professor,
Head of the laboratory
of Plant Genetic Engineering,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation;
Professor,
Irkutsk State University,
1, K. Marx St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
e-mail: yukon@sifibr.irk.ru

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and ap-
proved by all the co-authors.*

*The article was submitted 13.08.2020.
Approved after reviewing 19.10.2020.
Accepted for publication 31.05.2021.*