

На правах рукописи



Худякова Александра Юрьевна

**ВЛИЯНИЕ УФ-В-ОБЛУЧЕНИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В
ARABIDOPSIS THALIANA ПРИ ДЕФИЦИТЕ ФИТОХРОМОВ И
КРИПТОХРОМОВ**

03.01.05 – физиология и биохимия растений

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Москва – 2020

Работа выполнена в группе экологии и физиологии фототрофных организмов Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

доктор биологических наук Креславский Владимир Данилович

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Семи́н Борис Константинович

Доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Паничкин Леонид Александрович

Доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет –МСХА имени К.А. Тимирязева»

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет»

Защита состоится «» 2020 г. в .00 на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.210.01 при Учреждении Российской академии наук Институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН по адресу: 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35. Факс (495) 977-80-18, e-mail: ifr@ippras.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН

Автореферат разослан «» 2020 г.

Ученый секретарь совета
по защите докторских
и кандидатских диссертаций,
кандидат биологических наук

М.И. Азаркович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Известно, что в спектре солнечного излучения, действующего на растения, наибольший негативный эффект вызывает область УФ-В (Caldwell et al., 2007). При этом фотосинтетический аппарат (ФА), прежде всего ФС II, является одной из наиболее чувствительных к стрессу клеточных систем (Tuustjarvi, 2008). Поэтому изучение механизмов действия УФ-радиации и защиты ФА от нее является актуальной проблемой.

Действие УФ-В при достаточно высокой дозе приводит к ингибированию активности или даже повреждению ФА. Мишенями негативного действия УФ-В облучения, в первую очередь, являются кислород-выделяющий комплекс и белки реакционного центра D1 и D2, а также другие компоненты донорной и акцепторной сторон ФС II (Kataria et al., 2014). Процесс фиксации фотосинтетического углерода также является чувствительной мишенью к УФ-радиации (Kosobryukhov et al., 2020). Кроме того, УФ-В-облучение изменяет содержание фотосинтетических пигментов, устьичную проводимость и влияет на морфологию листьев. Активные формы кислорода участвуют в ответах растений на УФ-В-облучение как в качестве сигнальных, так и повреждающих агентов. Исключение УФ-компонентов солнечного спектра в полевых условиях приводит к повышению скорости фотосинтеза, в итоге повышается продуктивность растений.

УФ-радиация вызывает не только ингибирование фотосинтетической активности, но одновременно индукцию защитных систем (Kosobryukhov et al., 2020). Наряду с УФ-индуцированной активацией антиоксидантных систем и синтеза УФ-защитных пигментов, защитную роль при действии УФ-радиации может играть свет в синей области спектра и в области УФ-А (Häder et al., 2003), а также красный свет (КС), действующие через фоторецепторы – криптохромы и фитохромы, соответственно (Gavassi et al. 2017; Kreslavski et al., 2018).

Фитохромы (Фх) и криптохромы являются важными фоторецепторами, которые регулируют фотоморфогенез в процессе роста и развития растений: прорастание семян, удлинение стебля, расширение листьев, образование различных пигментов, развитие

хлоропластов и цветение. Они изменяют экспрессию многих генов, а также влияют на биосинтез фотосинтетических белков и ферментов, включая Рубиско, а также УФ-поглощающих пигментов (УФПП) (Liu et al., 2004; Kleine et al., 2007).

Особенно заметное влияние на ФА фитохромы оказывают в стрессовых условиях, в частности, они участвуют в защите ФА от УФ-облучения (Kreslavski et al., 2018). Аналогично действуют криптохромы. Так, криптохром 1, являясь одним из основных фоторецепторов света в УФ-А и синей областях, играет ключевую роль в ответе ФА растений *Arabidopsis thaliana* на действие УФ-В-радиации (Kosobryukhov et al., 2020). Тем не менее, имеется немного информации о роли фоторецепторов в ответных реакциях ФА к УФ-В-радиации. В основном показано, что изменения в содержании фоторецепторов влияют на содержание фотосинтетических пигментов и фотосинтетические процессы (Kreslavski et al., 2018), однако пути, посредством которых фоторецепторы влияют на ФА и роль отдельных фоторецепторов в защитных процессах, мало изучены. Поэтому изучение механизмов их вовлечения в ответные защитные реакции ФА при действии УФ-радиации является актуальной задачей.

Цели и задачи исследования. Цель – выявление степени воздействия и путей влияния дефицита фитохромов, прежде всего, ключевых фитохромов А и В и криптохрома 1 на фотосинтетические процессы при действии УФ-В-радиации. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние УФ-В-радиации на фотохимическую активность ФС II *Arabidopsis thaliana* дикого типа (ДТ) и мутантов с дефицитом ключевых фоторецепторов растений (ФхА, ФхВ и криптохром 1).
2. Исследовать постстрессовое восстановление активности ФС II растений ДТ и мутантов с дефицитом фоторецепторов.
3. Изучить влияние УФ-В и дефицита фоторецепторов на содержание в листьях фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов растений.
4. Исследовать влияние дефицита фоторецепторов на структуру и ультраструктуру хлоропластов в физиологических условиях и при действии УФ-В.

5. Изучить влияние УФ-В при дефиците фоторецепторов на уровни транскрипции генов фотосинтетических белков, ферментов антиоксидантной защиты и факторов транскрипции, ключевых для фоторецепторного сигналинга.

Научная новизна. Проведенные исследования позволили выявить ряд новых специфических путей влияния дефицита фитохромов и криптохромов на устойчивость ФА к кратковременно действующей УФ-В-радиации.

1. Обнаружено, что дефицит фитохрома В, криптохрома 1, а также фитохромов А и В одновременно (ДМ, двойной мутант) приводит к большему снижению устойчивости фотосистемы II и ФА в целом к кратковременно действующей УФ-В-радиации по сравнению с ДТ, и решающую роль при этом играет дефицит фитохрома В.
2. Впервые обнаружено, что отсутствие активности криптохромов при выращивании растений на красном свете приводит к заметно большей разнице в УФ-В-индуцированном снижении активности ФС II и скорости фотосинтеза у ДМ, по сравнению с ДТ, чем при выращивании этих растений на белом свете.
3. На примере мутантов, дефицитных по фитохромам, показано, что при дефиците фитохромов защитные механизмы усиления тепловой диссипации энергии и светоиндуцированного восстановления ФС II при облучении УФ-В действуют более эффективно, чем у ДТ.
4. С использованием ДМ арабидопсиса, выращенного при разных световых условиях, впервые выявлена отрицательная корреляция ($r = 0.98-0.99$) между чувствительностью ФС II у ДТ и ДМ к УФ-В и содержанием в листьях УФПП, что согласуется с защитной ролью этих пигментов при действии УФ-В на ФА.

Научно-практическая значимость. Наши теоретические разработки и концептуальные представления в отношении путей влияния содержания фитохромов и криптохромов на устойчивость ФА к УФ-радиации могут быть полезны для оптимального выращивания растений в стрессовых условиях при искусственном освещении.

Полученная нами информация, в частности, данные о молекулярных механизмах устойчивости ФА к УФ-радиации, может быть также использована при чтении базового курса и спецкурсов по физиологии растений в вузах.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на Научно-практической конференции «Научное приборостроение – современное состояние и перспективы развития» (Москва, 2016); III Межд. конф. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Москва, 2017); Годичном собрании ОФР (Крым (Судак), 2017); VIII Съезде Российского фотобиологического общества (пос. Шепси Краснодарского края, 2017); XIII Межд. конф. "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования" (Сочи, 2018); Межд. конф. «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» Тринадцатый съезд белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков (Минск, Беларусь, 2018); IV Межд. конф. «Роль физиологии и биохимии в интродукции и селекции овощных, плодовых, ягодных, лекарственных и кормовых растений» (г. Одинцово, 2018); XXV Межд. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2018); VIII и IX Съездах общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего» (Петрозаводск, 2015; Казань, 2019); XIII Межд. симп. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Пушино, 2019).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 5 статей в рецензируемых журналах, а также глава в книге.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, описания объектов и методов исследования и 6 экспериментальных глав, заключения, выводов и списка литературы, включающего 210 источников, в том числе 7 на русском и 203 на английском языке. Работа изложена на 119 страницах, включает 23 рисунка и 19 таблиц.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были растения *Arabidopsis thaliana* (экотип Columbia-0) дикого типа (ДТ) и следующие мутанты: – двойной мутант (ДМ), дефицитный по

фитохромам А и В одновременно; – *hy2*, дефектный в биосинтезе хромофора фитохрома фитохромобилина; – *hy4*, дефицитный по криптохрому 1. Также использовали растения *A. thaliana* экотипа Landsberg erecta ДТ и мутанты: – *phyA*, дефицитный по ФхА; – *phyB*, дефицитный по ФхВ. Семена растений были получены из European Arabidopsis Stock Centre (Nottingham, Великобритания). Растения выращивали при 8, 12, 16 ч фотопериоде или на непрерывном свете (24 ч) 25–27 дней при температуре 24 ± 1 °С днем и 21 ± 1 °С ночью с использованием белых флуоресцентных ламп ($I = 130$ мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) или красных светодиодов ($\lambda_{\text{max}} = 660 \pm 19$ нм, $I = 130$ мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$). Сразу после темного периода растения облучали УФ-В в течение 0.5–2 ч. Облучение проводили в темноте. Для получения УФ-В использовали ультрафиолетовую лампу PL-S 9W/01/2P (Philips Lighting, Польша) с $\lambda_{\text{max}} = 311 \pm 3$ нм и $I = 1$ Вт/ м^2 на поверхности листьев.

Для оценки флуоресцентных параметров использовали метод измерения быстрой флуоресценции хлорофилла (БФл, JIP-тест) и РАМ-флуориметрию. С использованием РАМ-флуориметра (Junior-PAM, Walz, Германия) были получены значения F_v , F_0 , F_m , максимальный (F_v/F_m) и эффективный ($Y(II)$) фотохимические квантовые выходы, скорость переноса электронов (ETR), нефотохимическое тушение (NPQ), квантовые выходы регулируемого нефотохимического тушения флуоресценции ($Y(NPQ)$) и нерегулируемого нефотохимического тушения флуоресценции ($Y(NO)$) (Muller et al., 2001; Гольцев и др., 2014). Методом БФл были получены индукционные кривые флуоресценции Хл *a*, на основе которых рассчитывали значения флуоресцентных параметров: F_v/F_m , F_v/F_0 , ET_0/ABS , ET_0/TR_0 , ABS/RC , TR_0/RC , DI_0/RC , PI_{ABS} , PI_{total} и количество Q_B -невосстанавливающих центров (Q_B -НЦ). Эти параметры характеризуют эффективность фотохимических процессов на различных стадиях, эффективность диссипации световой энергии в тепло и т.д., и подробно описаны в ряде статей (Stirbet, Govindjee, 2011; Kalaji et al., 2012, 2014).

Содержание Хл *a*, *b* и каротиноидов оценивали в этанольных экстрактах (Lichtenthaler, Wellburn, 1987) с помощью спектрофотометра Genesys 10 UV (Thermo Fisher Scientific, США) на длинах волн 470, 649 и 665 нм. Содержание УФПП в листьях

(в относительных единицах на 100 мг сырого веса) определяли по методике Mirecki и Teramura (1984). Содержание H_2O_2 определяли в 100 мкл экстракта путем измерения биолюминесценции хемиллюминометром Lum-100 (Россия) в смеси, содержащей 10^{-6} М пероксидазы и 10^{-4} М люминола (общий объем 1 мл) (Cormier, Prichard, 1968).

Для исследований с помощью электронной микроскопии срезы листьев из средней части листа фиксировали 2% глутаровым альдегидом в фосфатном буфере с постфиксацией 1% тетроксидом осмия или без нее. Ультратонкие срезы, полученные с помощью ультрамикротомов LKB (Швеция), контрастировали с уранилацетатом и цитратом свинца (Semenova, Romanova, 2011). После этого образцы изучали на электронном микроскопе JEM 100B (JEOL, Токио, Япония) и фотографировали.

Экспрессию генов определяли с помощью количественной ПЦР в реальном времени. Выделение суммарной РНК проводили с использованием реагента TRIzol (Invitrogen, США) согласно инструкции. ПЦР проводили с использованием iCycler IQ5 (Bio-Rad, США) и реакционных смесей из набора qPCRmix-HS SYBR (ОАО «Евроген», Россия). Ген UBQ5 (AT3G62250) использовали в качестве внутреннего контроля.

Скорость фотосинтеза P_n определяли в закрытой системе в условиях освещения с использованием портативного инфракрасного газоанализатора LCPro+ от ADC BioScientific Ltd. (Великобритания), соединенного с листовой камерой.

На таблицах и графиках показаны средние значения с их стандартными ошибками (SE). Для каждого эксперимента использовали три или четыре биологических и, по меньшей мере, 6–10 аналитических повторностей. Достоверность различий между любыми двумя вариантами описывалась *t*-критерием Стьюдента при уровне значимости 5%, если не указано иное. В многовариантных экспериментах использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе представлены данные о роли ФхА и ФхВ, а также криптохрома 1 в ответных реакциях фотосинтетического аппарата (ФА) при кратковременном (0.5-2 ч) действии УФ-В радиации. Поскольку фитохромы А и В являются ключевыми по влиянию на различные процессы роста и фотоморфогенеза растений, основные

исследования были сделаны на мутанте *Arabidopsis thaliana*, дефицитном по ФхА и ФхВ одновременно (ДМ, двойной мутант).

Известно, что для индукции образования физиологически активной (полувосстановленной) формы криптохрома необходим синий свет (Sellaro et al., 2010). В его отсутствии, то есть при выращивании растений на красном свете (КС), криптохромная система находится в неактивной форме, и активны только фитохромы. Чтобы выявить роль криптохромов в реакции ФА на индуцируемый УФ-В стресс, растения выращивали не только на белом свете (БС), но и на КС.

1. Влияние УФ-В на фотосинтетическую активность *phyAphyB* мутанта

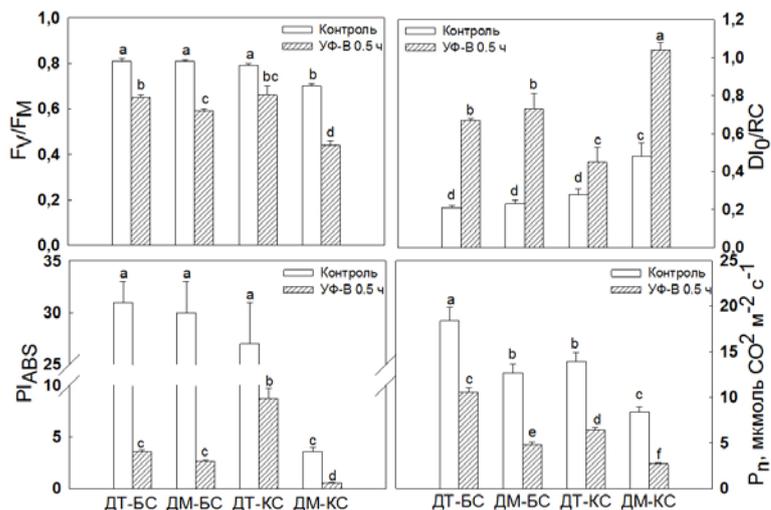
В первой части работы были проведены сравнительные исследования фотосинтетических параметров растений фитохромных мутантов *phyAphyB* и ДТ, выращенных на БС (ДМ-БС и ДТ-БС, соответственно) и на КС (ДМ-КС и ДТ-КС, соответственно), до и после кратковременного облучения УФ-В в течение 30 мин и при более длительном времени облучения – 1 и 2 ч.

Было обнаружено, что параметры флуоресценции (F_v/F_m , DI_0/RC , PI_{Abs}), характеризующие состояние ФС II, у необлученных растений ДМ и ДТ, выращенных на БС, не отличаются друг от друга (Рис. 1). По-видимому, в этом случае, наряду с оставшимися фитохромами (ФхС, ФхD и ФхЕ), криптохромы вносят существенный вклад в поддержание эффективного функционирования процессов фотосинтеза как световой, так и темновой фазы.

Параметры флуоресценции, полученные для выращенных на КС растений ДТ, были почти одинаковы по сравнению с параметрами растений ДТ-БС, а также ДМ-БС (Рис. 1). Это означает, что дефицит только ключевых фитохромов или отсутствие активных криптохромов не критичны для фотосинтетической активности на уровне фотосинтетического электронного транспорта. Однако в растениях ДМ, выращенных на КС (ДМ-КС), все параметры флуоресценции отличались от таковых в других вариантах (ДТ-БС, ДМ-БС и ДТ-КС). Так, было обнаружено, что максимальный квантовый выход ФС II (F_v/F_m) у ДМ-КС был на 11% меньше, а количество Q_v -невосстанавливающих центров (Q_v -НЦ) ФС II было на 24% больше, чем у растений

ДТ-КС. Параметр DI_0/RC , характеризующий диссипацию поглощенной световой энергии, был в 1.7 раза выше у ДМ по сравнению с ДТ. По-видимому, одновременный дефицит фитохромов А и В и отсутствие активности криптохромов уже критично и при длительном выращивании растений ДМ на КС развивается слабый окислительный стресс.

Рис.1. Влияние УФ-В (0.5 ч) на параметры быстрой флуоресценции и скорость фотосинтеза (P_n) листьев 26- дн. растений *A. thaliana* ДМ и ДТ, выращенных на БС и КС. Показаны средние значения $\pm SE$, $n = 4$. Достоверно отличные значения между вариантами ($p < 0.05$) указаны разными буквами. Контроль – необлученные УФ-В растения.



Отношение F_v/F_m характеризует фотохимическую активность ФС II. У растений ДМ, выращенных на БС, при действии УФ-В-излучения (0.5 ч) снижение величины F_v/F_m было больше, чем у ДТ (28% у ДМ по сравнению с 21% у ДТ) (Рис. 1).

При этом величина F_0 изменялась мало, а снижение отношения F_v/F_m было в основном за счет снижения F_m , что предполагает, прежде всего, повреждение донорной стороны ФС II. У КС-растений после УФ-облучения обнаружено более заметное снижение скорости фотосинтеза P_n (Рис. 1), индекса производительности ФС II PI_{ABS} и величины F_v/F_m , при этом наблюдалась еще большая разница между ДМ и ДТ, чем у БС-растений. По-видимому, отсутствие активных криптохромов усиливает негативное действие дефицита фитохромов на фотосинтетическую активность при умеренной дозе и кратковременном действии УФ-В.

По-видимому, дефицит фоторецепторов при облучении УФ-В воздействует на процессы восстановления Q_A и передачи поглощенной энергии света на РЦ, что приводит к увеличению тепловой диссипации поглощенной энергии (DI_0/RC) и снижению отношения F_v/F_0 (данные не показаны), которое характеризует показатель эффективности первичной фотохимической реакции (перенос электронов к Q_A). Это

может быть связано с тем, что при такой дозе не развивается заметный окислительный стресс.

Было также исследовано влияние более высоких доз УФ-В-излучения (1 и 2 ч) на фотохимическую активность ФС II 26-дн. растений *A. thaliana* ДТ и ДМ, выращенных на БС (Рис. 2 и 3).

При выращивании растений на БС заметных различий во всех параметрах флуоресценции у растений ДТ и ДМ не было обнаружено (Рис. 2).

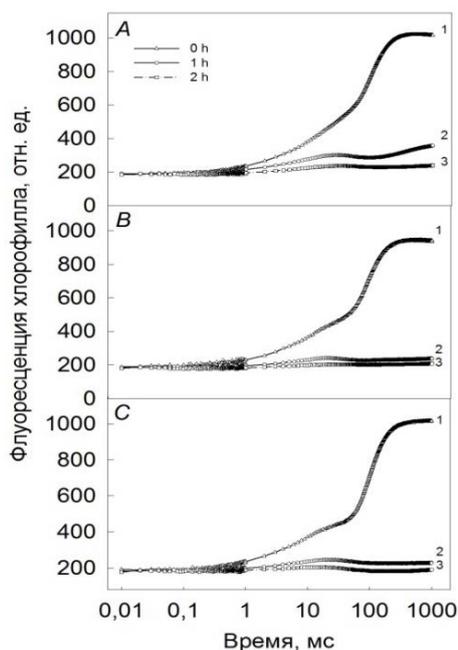


Рис. 2. Индукционные кривые флуоресценции Хл *a* растений *A. thaliana* ДТ (А), ДМ (В) и мутанта *hy2* (С), выращенных на БС. Отделенные листья подвергали воздействию УФ-В-излучения в течение 1 ч (2) и 2 ч (3) или не подвергали воздействию (1). Показаны типичные кривые.

Однако мы наблюдали небольшое уменьшение биомассы листьев у ДМ по сравнению с ДТ. Так, сырой вес листьев составил 13.5 ± 1 и 10.3 ± 0.5 для ДТ и ДМ, соответственно.

Обработка УФ-В приводила к значительным изменениям параметров и индукционных кривых, отражающих активность ФС II (Рис. 2 и 3). При этом изменения во всех значениях флуоресценции были более значительными у ДМ по сравнению с ДТ.

Увеличение значений DI_0/RC и ABS/RC , а также содержания Q_B -НЦ ФС2 в образцах, выращенных на БС, было больше у *hy2* и ДМ по сравнению с ДТ. Например, значение Q_B -НЦ увеличилось после 1 ч воздействия УФ с 34% до 55% у ДТ и с 36% до 81% у ДМ. Увеличение числа Q_B -НЦ ФС II согласуется с увеличением значений DI_0/RC и ABS/RC , и, по-видимому, связано с изменением структуры нативного состояния мембранного пигмент-белково-липидного комплекса ФС II, который может нарушаться из-за повреждения белка D1 или ингибирования его биосинтеза (Larossa et al., 1996).

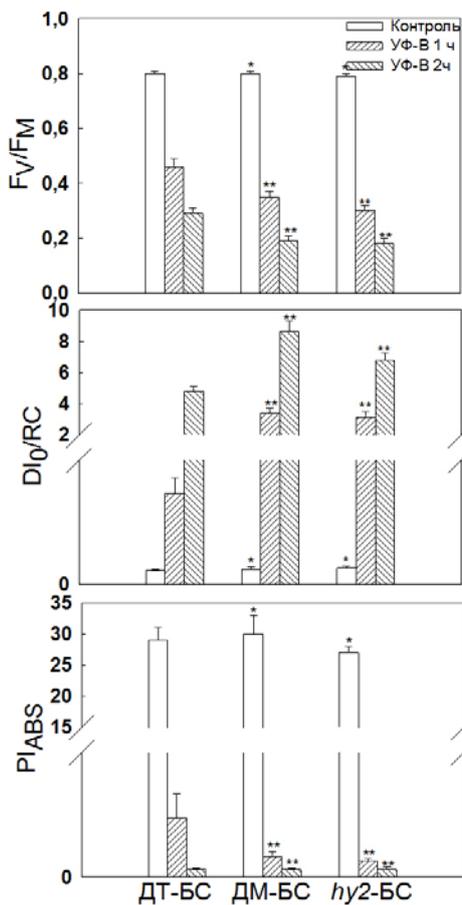


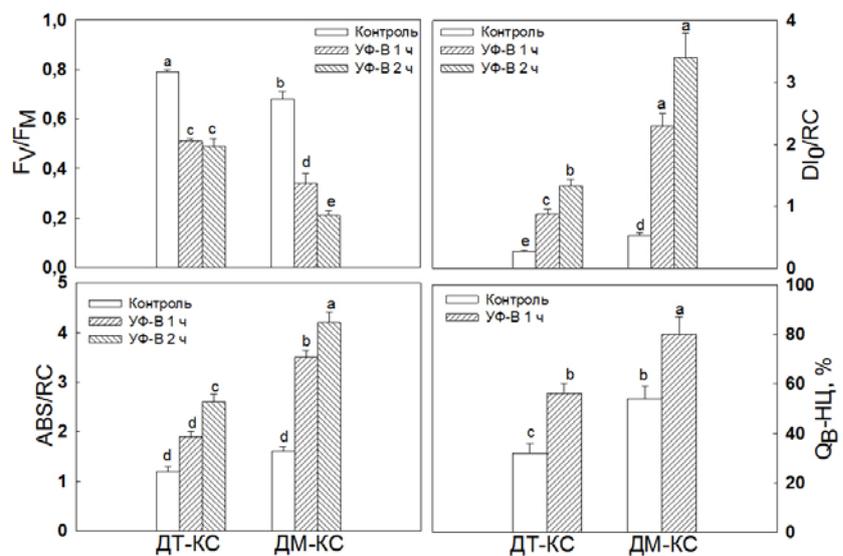
Рис. 3. Влияние дефицита фитохромов и УФ-В (1 и 2 ч) на флуоресцентные параметры 26-дн. растений *A. thaliana* ДТ и ДМ, выращенных на БС. Даны средние из 4 повторов \pm SE, $n = 4$. # – определение затруднено. * – разница между ДТ и ДМ или *hy2* до облучения УФ незначительна. ** – разница между ДМ и *hy2* после облучения незначительна, $p > 0.05$. Контроль – необлученные УФ-В растения.

Вероятно, при увеличении дозы УФ-В, наряду с нарушениями электронного транспорта, из-за поглощения квантов УФ-В молекулярными мишенями фотосистем и последующей инактивацией их компонентов, образуются АФК, которые нейтрализуются антиоксидантной системой заметно лучше у ДТ, чем у ДМ. Это согласуется с данными, полученными нами по влиянию УФ-В на содержание АФК в листьях арабидопсиса. Хотя увеличение H_2O_2

после 1 ч облучения растений не превышало 20% у ДМ и ДТ, после 2 ч облучения УФ-В наблюдалось увеличение содержания H_2O_2 у ДТ (на 40%) и ДМ (на 80%), выращенных на БС, что подтверждает идею более сильного окислительного стресса у ДМ.

Растения, выращенные на КС, показали более существенные различия во всех параметрах флуоресценции после обработки УФ-В (1 и 2 ч) между ДТ и ДМ (Рис. 4).

Рис. 4. Влияние дефицита фитохромов и УФ-В (1 ч) на флуоресцентные параметры 26-дн. растений *A. thaliana* ДТ и ДМ, выращенных на КС. $n = 4$. # – определение затруднено. Достоверно отличные значения между вариантами ($p < 0.05$) указаны разными буквами. Контроль – необлученные УФ-В растения.



Известно (Kramer et al., 2004), что снижение величины эффективного квантового выхода ФС II $Y(II)$ всегда сопряжено с увеличением квантовых выходов нерегулируемого нефотохимического тушения флуоресценции $Y(NO)$ и регулируемого нефотохимического тушения флуоресценции $Y(NPQ)$. Поскольку величина $Y(II)$ снижалась больше у ДМ, то следовало ожидать большее повышение одного или обоих квантовых выходов. Действительно, у растений, выращенных на БС, облучение УФ-В (1 ч) вызывало заметное повышение квантового выхода $Y(NO)$ причем большее у ДМ, чем у ДТ (на 29%). При этом другой квантовый выход $Y(NPQ)$ мало изменялся. Следовательно, у мутанта лучше работает защитный механизм сброса избыточной энергии, при окислительном стрессе, связанный с $Y(NO)$ – нерегулируемой диссипацией поглощенной энергии света.

Таким образом, несмотря на заметное снижение активности ФС II при действии УФ-В на растения, выращенные на БС, отсутствие ключевых фитохромов при активной криптохромной системе, не так критично для устойчивости ФА к УФ-В. Однако, если криптохромы неактивны (как в растениях ДМ, выращенных на КС), оставшиеся фитохромы D, E и C не могут обеспечить достаточно высокую устойчивость ФС II к УФ-В.

При действии любых стрессовых факторов существует два сопряженных процесса – ингибирование активности ФА, прежде всего ФС II, и восстановление поврежденной ФС II за счет синтеза фотосинтетических белков *de novo*, прежде всего белка D1 (Murata et al., 2007). Дефицит фитохромов может влиять на любой из них.

Было изучено, насколько разнятся ДТ и ДМ, выращенные на БС и КС, при постстрессовом светоиндуцированном восстановлении ФС II после облучения УФ-В (30 мин). В динамике восстановления фотосинтетической активности, которую оценивали по величине F_v/F_m , после стресса не обнаружено достоверных различий в скорости индуцированного светом восстановления ФС II после стресса у растений ДТ и ДМ, выращенных в условиях БС. Восстановление было значительным через 1 ч, и его скорость не сильно зависела от дефицита фитохромов В и А, а также от типа света, используемого для восстановления (БС или КС). При этом степень восстановления ФС

П растений, выращенных на КС, у ДМ была выше, чем у ДТ (67% у ДТ и 82% у ДМ). Восстановление не проявлялось в присутствии ингибитора белкового синтеза – хлорамфеникола (ХА) (3 мМ). Такой эффект ХА может указывать на то, что повреждение ФС II, в основном, связано с ресинтезом белков, прежде всего белка D1, который легко повреждается, а затем быстро синтезируется на свету вновь и встраивается в комплекс ФС II (Andersson and Aro, 2001).

Для понимания роли света в реакции ФА на УФ-В и выявления разницы между ДТ и ДМ в плане разделения эффектов повреждения ФА в темноте и его восстановления на свету, мы провели детальное исследование динамики восстановления ФС II при двух интенсивностях света. В темноте восстановление практически не происходило, наблюдалось только ингибирование активности ФС II (Рис. 5).

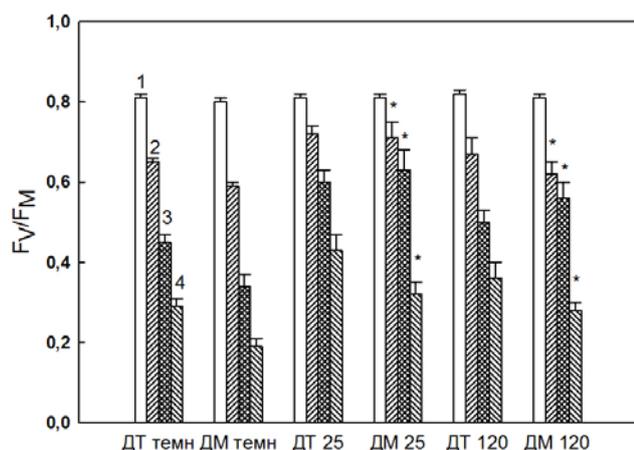


Рис. 5. Изменение максимального квантового выхода ФС II (F_v/F_m) 25-дн. растений *A. thaliana* ДТ и ДМ, выращенных на БС, при облучении УФ-В в течение 0.5 (2), 1 (3) и 2 ч (4) в темноте или на свету 25 мкмоль квантов $m^{-2} s^{-1}$ и 120 мкмоль квантов $m^{-2} s^{-1}$. 1 – без облучения. * – разница между ДТ и ДМ при одинаковой интенсивности света недостоверна, $p > 0.05$.

На свету снижение активности было меньше за счет сопряженного восстановления активности ФС II. Причем на свету (25 и 120 мкмоль квантов $m^{-2} s^{-1}$) не было обнаружено заметной разницы в снижении фотохимической активности между ДТ и ДМ, возможно, за счет несколько более эффективного восстановления активности ФС II у ДМ. Это согласуется с тем, что степень светоиндуцированного восстановления активности ФС II после УФ-В облучения была выше у ДМ (Khudyakova et al., 2017).

Предполагается, что при совместном действии УФ-В и видимого света (Рис. 5) разница в снижении активности ФС II между ДТ и ДМ не увеличивалась, видимо, из-за частичной компенсации окислительного стресса в силу индукции светом антиоксидантного потенциала в листе.

Наиболее показательна с точки зрения выявленных изменений оказалась доза УФ-В 3.6 кДж м⁻². Из совокупности полученных данных в разделе 1 следует, что при увеличении дозы облучения у КС растений разница между ДТ и ДМ по всем параметрам заметно возрастает. Видимо, это связано со степенью развития окислительного стресса, который был слабо выражен при низкой дозе УФ-В (1.8 кДж м⁻²).

2. Влияние УФ-В на фотосинтетическую активность *phyB* и *phyA* мутантов

Имеется мало информации о действии УФ-В на фотосинтетические параметры растений, дефицитных по различным фитохромам (Gavassi et al., 2018; Kreslavski et al., 2018). Нами был восполнен этот пробел с применением мутантов *A. thaliana phyA*, дефицитного по ФхА, и *phyB*, дефицитного по ФхВ, которые были использованы для исследования влияния УФ-В.

Было исследовано влияние УФ-В-облучения на скорость фотосинтеза (P_n) и дыхания, а также на параметры, характеризующие первичные фотохимические процессы фотосинтеза. Анализировали величины максимального квантового выхода флуоресценции ФС II (F_v/F_m), диссипации поглощенной энергии света (DI_0/RC), а также индекса производительности ФС II PI_{ABS} и скорости фотосинтеза при действии УФ-В-облучения (1 ч) в листьях растений *A. thaliana* ДТ (экотип *Landsberg erecta*), мутантов *phyA*, дефицитного по ФхА, и *phyB*, дефицитного по ФхВ, выращенных на БС (Рис. 6 и табл. 2).

Обнаружено, что УФ-В-облучение (1 ч) снижает величины F_v/F_m и PI_{ABS} у мутантов и ДТ (Рис. 6). Эти данные согласуются с рассчитанными величинами DI_0/RC и кажущегося размера антенны ФС II (ABS/RC), которые при этом должны возрастать. Так, величина DI_0/RC возросла более чем в 4 и 2 раза у мутанта *phyB* и ДТ, соответственно.

Самые значительные УФ-В индуцированные изменения величины PI_{ABS} наблюдались у *phyB* мутанта (снижение в 13 раз), тогда как у ДТ и *phyA* мутанта они были значительно меньше (Рис. 6). Также наблюдалась тенденция к большему изменению других параметров, таких как F_v/F_m , DI_0/RC и ABS/RC . При этом отличие

phyA мутанта от ДТ по всем параметрам было незначительно. Это означает, что у ДМ основной вклад в снижение активности ФС II вносит дефицит ФхВ.

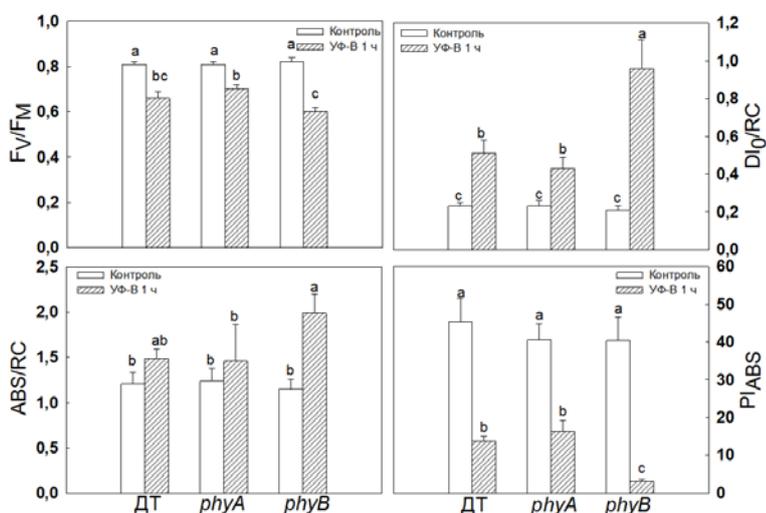


Рис. 6. Влияние УФ-В (1 ч) на флуоресцентные параметры листьев 25-дн. растений *A. thaliana* ДТ и мутантов *phyA* и *phyB*, выращенных на БС. Показаны средние значения \pm SE, $n = 7$. Достоверно отличные значения между вариантами ($p < 0.05$) указаны разными буквами. Контроль – необлученные УФ-В растения.

Облучение УФ-В (1 ч)

приводило к снижению скорости фотосинтеза, наибольшему у растений, дефицитных по ФхВ (табл. 1). Облучение УФ-В также приводило к относительному увеличению скорости дыхания по отношению к фотосинтезу вдвое у *phyA* и *phyB*, и значительно меньше у ДТ. Таким образом, повышение интенсивности дыхания, что служит защитным механизмом при стрессе за счет образования при дыхании АТФ, проявляется в большей степени у фитохромных мутантов, чем у ДТ.

Также было обнаружено, что у растений, выращенных на БС, УФ-В (1 ч) вызывает понижение квантового выхода $Y(NPQ)$ на 40% у ДТ и не изменяет у мутанта *phyB*. При этом квантовый выход $Y(NO)$ возрастал у ДТ на 70% и у мутанта *phyB* на 90%. Следовательно, у мутанта лучше работает механизм, защищающий от окислительного стресса, в виде тепловой диссипации поглощенной энергии.

Таким образом, определяющую роль в устойчивости ФА растений арабидопсиса к кратковременному действию УФ-В играет ФхВ.

Параметр/ вариант	P_n , мкмоль CO_2 /г (СВ)	R , мкмоль/г (СВ)
ДТ	$17.3 \pm 0.3a$	$5.0 \pm 0.2b$
ДТ-УФ	$10.5 \pm 0.4b$	$3.9 \pm 0.2c$
<i>phyA</i>	$19.4 \pm 1.6a$	$7.2 \pm 0.2a$
<i>phyA</i> -УФ	$9.6 \pm 0.3b$	$6.4 \pm 0.2a$
<i>phyB</i>	$22.1 \pm 3.0a$	$6.7 \pm 0.1a$
<i>phyB</i> -УФ	$6.9 \pm 0.1c$	$4.2 \pm 0.3bc$

Таблица 1. Влияние УФ-В облучения (1 ч) на скорости фотосинтеза (P_n) и дыхания (R) 25-дн. растений *A. thaliana* ДТ и мутантов *phyA* и *phyB*, выращенных на БС. СВ – сырой вес. Представлены средние значения из 6 листьев от 3 растений \pm SE. Достоверно отличные значения между вариантами ($p < 0.05$) указаны разными буквами.

3. Влияние УФ-В на фотосинтетическую активность *hy4* мутанта

Хотя при выращивании растений на КС криптохромная система неактивна, мы не всегда наблюдали заметную разницу между величинами квантовых выходов у ДМ-КС и ДМ-БС, а также у ДТ-КС и ДТ-БС при облучении УФ-В. Поэтому для более строгого рассмотрения роли криптохромов было исследовано влияние УФ-В на флуоресцентные параметры растений *A. thaliana* ДТ и мутанта *hy4* с дефицитом криптохрома 1, выращенных на БС и КС. В последнем случае предполагалось отсутствие разницы между *hy4* и ДТ при действии УФ-В на активность ФС II.

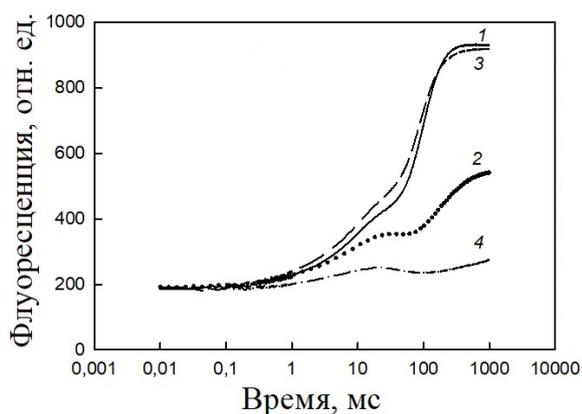


Рис. 7. Индукционные кривые флуоресценции Хл *a* листьев 25-дн. растений *A. thaliana* ДТ (1, 2) и мутанта *hy4* (3, 4), выращенных на белом свете, до (1, 3) и после УФ-В облучения (1 ч) (2, 4). Показаны типичные кривые.

Показано, что УФ-индуцированное снижение флуоресцентных параметров F_v/F_m , ABS/RC , DI_0/RC , PI_{ABS} , Q_B -НЦ было значительно выше у мутантных растений *hy4*,

выращенных на БС (Рис. 7, табл. 3).

Таблица 3. Влияние УФ-В (1 ч) на параметры быстрой флуоресценции Хл листьев 25-дн. растений *A. thaliana* ДТ и мутанта *hy4*, выращенных на БС. Данные представлены как средние значения \pm SD, $n = 4$.

Вариант/параметр	F_v/F_m	ABS/RC	DI_0/RC	PI_{ABS}	F_v/F_0	Q_B -НЦ
ДТ-БС	0.80 ± 0.007	1.29 ± 0.01	0.26 ± 0.01	28.6 ± 7.4	4.15 ± 0.01	33 ± 2
ДТ-БС(УФ)	0.58 ± 0.01	1.81 ± 0.04	0.77 ± 0.02	4.28 ± 0.33	1.42 ± 0.05	48 ± 1
<i>hy4</i> -БС	$0.79 \pm 0.02^*$	$1.26 \pm 0.05^*$	$0.27 \pm 0.02^*$	$27.3 \pm 7.8^*$	$3.77 \pm 0.22^*$	$33 \pm 3^*$
<i>hy4</i> -БС(УФ)	0.37 ± 0.06	3.43 ± 0.81	2.34 ± 0.55	0.52 ± 0.32	0.61 ± 0.15	61 ± 3

* – разница между ДТ и *hy4* недостоверна ($p > 0.05$), ** – разница между ДТ и ДТ(УФ) недостоверна ($p > 0.05$), # – разница между *hy4* и *hy4* (УФ) недостоверна ($p > 0.05$)

Однако при выращивании на КС эти параметры мало отличались друг от друга. Так, количество Q_B -НЦ у ДТ при любых условиях освещения составляло 30–35%, тогда как у мутанта 30–37%. И если после облучения УФ-В растений, выращенных на БС, количество Q_B -НЦ увеличилось на 45% у ДТ и на 85% у *hy4*, то у ДТ и *hy4*, выращенных на КС, содержание Q_B -НЦ и отношение F_v/F_m практически не отличалось между ДТ и *hy4* как до, так и после облучения УФ-В.

Повышенное ингибирование активности ФС II у мутанта *hy4* при действии света высокой интенсивности (СВИ) наблюдали в работе Kleine et al., (2007). Нами показано, что ФС II у *hy4* мутанта обладает повышенной чувствительностью не только к СВИ, но и к УФ-В-радиации.

4. Возможные причины влияния дефицита фоторецепторов на фотосинтетические процессы

Мы попытались объяснить значительное влияние фоторецепторов на ФА в физиологических и стрессовых условиях (УФ-В-радиация), проведя анализ возможных причин, рассмотренных в ряде работ, в которых анализируется несколько путей участия фитохромов и криптохромов в ответных защитных реакциях ФА на окислительный стресс (Zhao et al., 2013; Carvalho et al., 2016, Kreslavski et al., 2018). Фоторецепторы могут влиять на ультраструктурные и структурные изменения хлоропласта, вызывать изменения в экспрессии генов фотосинтетических белков в прооксидантном/антиоксидантном балансе, регулировать плотность и проводимость устьиц, влиять на содержание компонентов переноса электрона в фотосинтетической электрон-транспортной цепи и энергетику клетки. Еще одним возможным механизмом является регуляция содержания различных пигментов листа, таких как антоцианы, флавоноиды и каротиноиды, которые могут действовать как оптический фильтр, а также как антиоксиданты (Kreslavski et al., 2018).

Для выявления связи между изменениями фотохимической активности ФС II при действии УФ-В-облучения и содержанием различных пигментов в листьях растений ДТ и ДМ, выращенных на БС и КС при различных фотопериодах (12, 16 и 24 ч), мы провели сравнение содержания УФПП и каротиноидов при разных фотопериодах, предполагая, что величина фотопериода и дефицит фитохромов влияют на содержание пигментов.

Как показано ранее, ДМ, выращенный на КС и БС, обладает более высокой чувствительностью ФС II к УФ-В, чем ДТ. Мы предположили, что одной из основных причин этого различия может быть пониженное содержание УФПП, таких как флавоноиды и каротиноиды. С другой стороны, дефицит фитохромов может влиять на

ультраструктуру хлоропластов в листьях ДМ и ДТ. Содержание УФПП в листьях растений ДТ, выращенных на КС, сильно зависело от фотопериода и уменьшалось в последовательности 24 ч > 16 ч > 12 ч. При этом во всех рассматриваемых вариантах содержание УФПП было выше у ДТ по сравнению с ДМ.

С другой стороны, была обнаружена связь между отношением содержания УФПП и Кар у ДТ к содержанию у ДМ (содержание ДТ/содержание ДМ) (Рис. 8 А) и относительным УФ-индуцированным снижением величины F_v/F_m (ОС) 25-дн. растений *A. thaliana*, выращенных на КС и на БС (Рис. 8 В). Показано, что при любом фотопериоде снижение активности ФС II у ДТ было меньше, чем у ДМ (Рис. 8 В). При этом более высокое содержание УФПП и отчасти каротиноидов в листьях того или иного варианта сопровождалось меньшим ингибированием ФС II, тогда как низкое содержание УФПП сопровождалось сильным снижением активности ФС II.

При этом у растений, выращенных на непрерывном КС, разница в содержании пигментов между ДТ и ДМ была самой большой, а при фотопериоде 12 ч разница была минимальной.

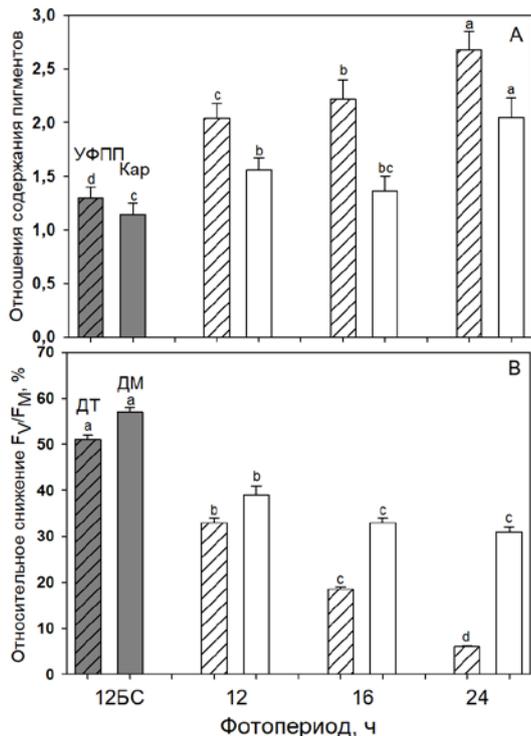


Рис. 8. Отношения содержания УФПП и Кар (содержание ДТ/содержание ДМ) (А) и относительные снижения (ОС) F_v/F_m (В) 25-дн. растений *A. thaliana*, выращенных на КС при фотопериодах 12, 16 и 24 ч (белые столбики) и на БС (серые столбики) при 12ч фотопериоде. (ОС) было рассчитано как: $ОС (\%) = [F_v/F_m (-УФ-В) - F_v/F_m (+УФ-В)] / F_v/F_m (-УФ-В) \times 100$, где (-УФ-В) и (+УФ-В) представляют растения до и после облучения УФ-В в течение 1 ч. Все левые заштрихованные столбики (А) – это отношение содержания УФПП у ДТ к содержанию УФПП у ДМ. Все правые столбики представляют такие же отношения для Кар. Все левые столбики (В) представляют значения ОС у ДТ и сравниваются между собой, и все правые столбики показывают значения ОС у ДМ и тоже сравниваются. Столбцы показывают средние значения \pm SD. Буквы над столбцами указывают разницу ($p < 0.05$).

Мы рассчитали отношения ОС(ДТ)/ОС(ДМ) растений КС при разных фотопериодах, которые, по нашему мнению, характеризуют разницу в чувствительности ФС II к УФ-В между ДТ и ДМ. Соотношения составили 1.22, 1.82 и 6.0 при 12, 16 и 24 ч фотопериодах,

соответственно. Рассчитанные коэффициенты корреляции (r) для УФПП и каротиноидов были 0.84 и 0.88, соответственно (Рис. 8 А). Коэффициенты корреляции между значениями ОС(ДТ) и ОС(ДМ) у растений, выращенных на КС, при фотопериодах 12, 16 и 24 ч и соответствующих значениях содержания УФПП были -0.99 у ДТ и -0.98 у ДМ. Значительная разница в содержании УФПП сохранялась и в препаратах тилакоидных мембран, выделенных из листьев ДТ и ДМ (16 ч фотопериод). Так, содержание УФПП у ДТ составило 0.082 отн. ед. на 100 мг сырого веса листьев, тогда как у ДМ было 0.033 отн. ед. на 100 мг сырого веса листьев. Этот факт предполагает, что не только поверхностный слой листа, содержащий большую часть флавоноидов, но и УФПП в хлоропластах могут играть защитную роль против негативного действия УФ-В на ФА.

Из полученных данных следует, что высокое содержание УФПП значительно способствует устойчивости ФС II к кратковременному воздействию УФ-В. Следовательно, пониженным содержанием УФПП у ДМ можно объяснить снижение устойчивости ФС II этих растений к кратковременному УФ-В-излучению.

Однако, несмотря на заметное ингибирование активности ФС II при 1 ч облучении УФ, обнаружено лишь небольшое влияние дефицита фитохромов на

ультраструктуру хлоропластов (Рис. 9 А–F).

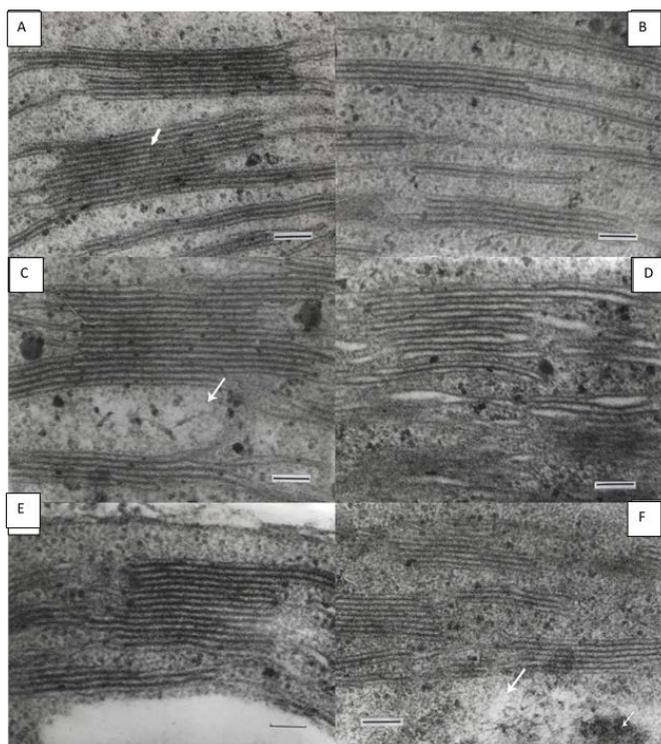


Рис. 9. Организация тилакоидов в гранах хлоропластов растений *A. thaliana* ДТ (А, С, Е) и ДМ (В, D, F), выращенных на БС, и облученных УФ-В (С, Е, D, F), а затем восстановленных в течение 3 ч на БС (Е, F) или без воздействия УФ-В (А, В). Стрелка показывает электронно-плотную контактную полосу между тилакоидами (А). Отрезки на микрофотографии равны 100 нм.

Так, в некоторых хлоропластах среднее количество тилакоидов в гранах ДМ было ниже, чем у ДТ. Мы наблюдали небольшое набухание

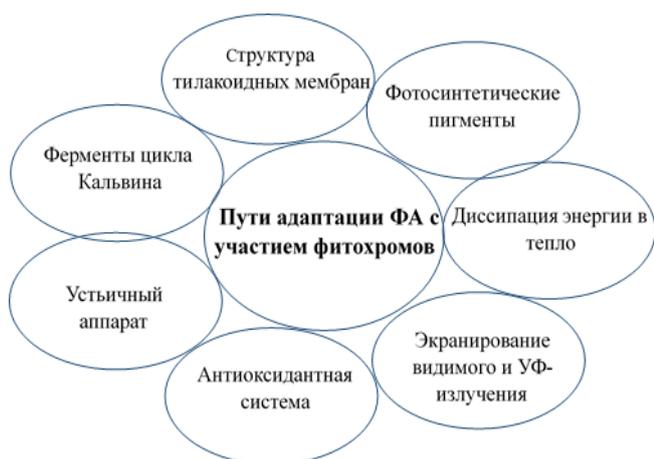
тилакоидов у ДТ и ДМ, и сильное набухание маргинальных тилакоидов у ДМ (Рис. 9 D), которое не проявлялось после восстановления (Рис. 9 F).

Было также изучено насколько отличается экспрессия ряда ключевых генов антиоксидантных ферментов, факторов транскрипции, фитохромного и УФ-В сигналинга у растений ДТ и ДМ, выращенных на БС и КС.

Показано, что уровни экспрессии генов *sAPX*, а также *POR-B* и *POR-C*, кодирующих стромальную аскорбатпероксидазу и протохлорофиллид-оксидозоредуктазу, соответственно, снижены у ДМ, выращенных на БС. Уровни *sAPX* и *POR-B* были снижены более чем в два раза, а *POR-C* – в четыре раза. У ДМ на КС – уровень экспрессии генов, кодирующих факторы транскрипции *HY2* и *HY5* были понижены в пять раз и в два раза, соответственно, что может обуславливать сниженную активность стромальных пероксидаз и пониженное содержание хлорофилла у ДМ.

При исследовании влияния облучения УФ-В (1 ч) нет заметных различий по экспрессии генов у ДТ и ДМ. Видимо, нужно более длительное действие УФ-радиации.

С учетом наших и литературных данных (Khudyakova et al., 2017, 2019; Kreslavski et al., 2018; Войцеховская, 2019) показана схема возможных путей участия



фоторецепторов в защите ФА от УФ-В радиации на уровне хлоропласта (Рис. 10).

Рис. 10. Возможные пути участия фоторецепторов в защите ФА от УФ-В радиации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что умеренные дозы кратковременной УФ-В-радиации (0.5–2 ч, 1.8–7.2 кДж м⁻²) приводят к заметному снижению фотосинтеза и активности ФС II у мутантов *phyB*, ДМ, *hy2* и *hy4* по сравнению с ДТ. Между ДТ и мутантом *phyA* заметная разница не обнаружена. Отсюда можно заключить, что устойчивость ФА к кратковременному действию УФ-В существенно зависит от ФхВ и криптохрома 1 и в меньшей степени от ФхА. При этом обнаружена определенная корреляция между

изменениями активности ФС II при изменении содержания фитохромов и световых условий и содержанием флавоноидов, каротиноидов и других УФПП. Последние являются как внутренним оптическим фильтром, поглощающим УФ-В, так и низкомолекулярными антиоксидантами, нейтрализующими АФК (Рис. 10). УФ-В индуцировал небольшие изменения ультраструктуры хлоропластов, обусловленные умеренной дозой и кратковременным действием УФ-В. Диссипация поглощенной энергии света в тепло является одним из защитных механизмов, и он проявлялся у мутантов более эффективно по сравнению с ДТ. Наши исследования влияния УФ-В на активность ФС II у мутантов, дефицитных по криптохрому 1 – ключевому при действии света высокой интенсивности и УФ-радиации, также предполагают важную роль криптохромов, прежде всего криптохрома 1, в защите ФА от негативного действия УФ-радиации.

Из наших данных следует, что фитохромы и криптохромы играют важную роль в поддержании устойчивости ФА к УФ-В путем индукции биосинтеза различных низкомолекулярных антиоксидантов и антиоксидантных ферментов, посредством активации экспрессии соответствующих светочувствительных генов.

ВЫВОДЫ

1. Впервые показано, что по сравнению с ДТ у мутантов *Arabidopsis thaliana*, дефицитных по фитохромам (*hy2* и ДМ), а также криптохрому 1, выращенных на БС, кратковременное облучение УФ-В приводит к большему снижению фотохимической активности ФС II, а также к большему возрастанию эффективности диссипации световой энергии в тепло (DI_0/RC).
2. Показано, что разница по всем флуоресцентным параметрам между ДТ и ДМ, облученными УФ-В (30 мин), более значительна у растений, выращенных на КС, по сравнению с растениями, выращенными на БС, что связано с отсутствием у КС растений активности криптохромов.
3. Обнаружено, что содержание фотосинтетических пигментов и УФПП значительно ниже у ДМ по сравнению с ДТ и эта разница увеличивается после УФ-В-облучения. Содержание УФПП у мутанта *hy4*, выращенного на БС, было ниже, чем у ДТ, и эта

разница сохранялась после облучения УФ-В. Однако не обнаружена разница в содержании фотосинтетических пигментов между *hy4* и ДТ как до, так и после УФ-В-облучения.

4. Впервые показано, что при дефиците фитохромов защитные механизмы усиления тепловой диссипации поглощенной энергии и светоиндуцированного постстрессового восстановления ФС II после кратковременного облучения УФ-В работают более эффективно у ДМ, чем у ДТ арабидопсиса. Особенно заметная разница по этим параметрам проявляется у растений, выращенных на КС.

5. Выявлено, что основной вклад в повышение чувствительности ФС II мутантов к УФ-В вносит наличие дефицита ФхВ.

6. Показано, что большее снижение фотохимических квантовых выходов ФС II у ДМ в ответ на кратковременное облучение УФ-В связано с более низким содержанием УФПП, в основном фенольных соединений и каротиноидов, но не с влиянием содержания фитохромов на ультраструктуру хлоропластов.

СПИСОК РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

1. Kreslavski V.D., Kosobryukhov A.A., Shirshikova G.N., Khudyakova A.Y., Allakhverdiev S.I., Schmitt F.-J., Semenova G.A. (2017) Photochemical activity and the structure of chloroplasts in *Arabidopsis thaliana* L. mutants deficient in phytochrome A and B. *Protoplasma*, **254(3)**, pp. 1283–1293.
2. Khudyakova A.Y., Kreslavski V.D., Shirshikova G.N., Zharmukhamedov S.K., Kosobryukhov A.A., Allakhverdiev S.I. (2017) 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*, **169**, pp. 41–46.
3. Kreslavski V.D., Shmarev A.N., Lyubimov V.Y., Zharmukhamedov S.K., Shirshikova G.N., Khudyakova A.Y., Allakhverdiev S.I., Semenova G.A. (2018) Response of photosynthetic apparatus in *Arabidopsis thaliana* L. mutant deficient in phytochrome A and B to UV-B. *Photosynthetica*, **56(1)**, pp. 418–426.
4. Khudyakova A.Y., Kreslavski V.D., Shmarev A.N., Lyubimov V.Y., Shirshikova G.N., Allakhverdiev S.I., Pashkovskiy P.P., Kuznetsov V.V. (2019) Impact of UV-B radiation on the photosystem ii activity, pro-/antioxidant balance and expression of light-activated genes in *Arabidopsis thaliana hy4* mutants grown under light of different spectral composition. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **194**, pp. 14–20.
5. Kreslavski V.D., Huang X., Semenova G., Khudyakova A., Shirshikova G., Hummatov N., Zharmukhamedov S.K., Li X., Allakhverdiev S.I., Nie C., Shabala S. (2020) Linking sensitivity of photosystem II to UV-B with chloroplast ultrastructure and UV-B absorbing pigments contents in *A. thaliana* L. *phyAphyB* double mutants. *Plant Growth Regul*, **91**, pp. 13–21.

Глава в книге:

Kosobryukhov A., Khudyakova A., Kreslavski V. (2020) Impact of UV Radiation on Photosynthetic Apparatus: Adaptive and Damaging Mechanisms. In: *Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives I* Hasanuzzaman M. (eds.) Springer, Singapore, pp. 555–576.

Тезисы докладов:

1. Шмарев А.Н., Ширшикова Г.Н., Худякова А.Ю., Креславский В.Д. (2017) Фитохромная регуляция фотосинтетических процессов в растениях *Arabidopsis thaliana*. В сб: *Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования*, S13, Москва, с. 260–262.
2. Креславский В.Д., Ширшикова Г.Н., Худякова А.Ю., Шмарев А.Н., Любимов В.Ю. (2017) Фитохромная регуляция стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата высших растений. В книге: *Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты Научная конференция и школа молодых ученых*, Крым, Судак, с. 49.
3. Худякова А.Ю., Строкина В.В. (2018) Влияние фитохромной системы на устойчивость фотосистемы 2 к свету высокой интенсивности и УФ-В. В сб: *Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования*, 13, Сочи, с. 328-330.
4. Худякова А.Ю., Шмарев А.Н., Ширшикова Г.Н. (2018) Влияние фитохромной и криптохромной системы на активность фотосинтетического аппарата растений арабидопсиса при действии УФ-радиации. В книге: *Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем Материалы Международной научной конференции*, Минск, Беларусь, с. 129.
5. Шмарев А.Н., Худякова А.Ю. (2019) Использование флуоресценции хлорофилла а для исследования роли фоторецепторов при действии стрессоров на фотосинтетический аппарат. В сб: *Известия ФНЦО*, 1, 97-100.
6. Пашковский П.П., Худякова А.Ю. (2019) Роль криптохромов при действии УФ-В радиации на фотосинтетический аппарат растений *Arabidopsis thaliana*. В сб: *Известия ФНЦО*, 1, 90–92.
7. Худякова А.Ю., Ширшикова Г.Н., Любимов В.Ю., Креславский В.Д. (2019) Фоторецепторы растений как фактор адаптации фотосинтетического аппарата к УФ-радиации. В сб: *Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования сборник научных трудов по материалам XIII Международного симпозиума*, Пущино, с. 101-103.