

УДК 577.344.2

РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ХЛОРОФИЛЛА ФИТОХРОМОМ А

Обзор

© 2019 В.А. Синешечков*, О.Б. Беляева*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119234 Москва, Россия;
электронная почта: vsineshchekov@gmail.com;
belyaeva0104@gmail.com

Поступила в редакцию 06.12.2018

После доработки 29.01.2019

Принята к публикации 29.01.2019

Посвящается профессору Ф.Ф. Литвину в связи с его 90-летием.

Фотосинтетический аппарат выполняет две основные функции в растениях – преобразование солнечной энергии и защиту растений от фотодеструкции. Формирование фотосинтетического аппарата включает скоординированный биосинтез хлорофилла и белков хлорофилл-связывающей матрицы. Свет играет здесь центральную роль, управляя как метаболическими, так и регуляторными процессами. Регулирование достигается за счет работы сложного фоторецепторного аппарата с фитохромной системой в качестве основного компонента. Обзор посвящен биосинтезу хлорофилла и роли фитохрома А в регуляции этого процесса. Рассмотрены основные темновые и световые этапы биосинтеза нативных форм хлорофилла. Описан механизм действия фитохрома А и специфика его состояния в растении, в частности, наличие двух его нативных типов с разными способами действия. Обсуждается специфичность регуляторного влияния фитохрома А на биосинтез предшественника хлорофилла – протохлорофиллида в зависимости от ткани/органа растения, его вида, генетических модификаций и гормонального статуса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биосинтез, хлорофилл(ид), протохлорофилл(ид), регуляция, фотоморфогенез, фитохром А, фитогормоны.

DOI: 10.1134/S032097251905004X

Будучи ограниченными в движении организмами, автотрофные растения обладают жизненно важной способностью приспосабливать свой рост и развитие к условиям окружающей среды. Стратегия такой адаптации заключается в максимальном преобразовании солнечной энергии и минимизации их фотохимического повреждения. Эти две цели достигаются уже на молекулярном уровне с участием фотофизичес-

ких и фотохимических процессов и, прежде всего, миграции энергии возбуждения, которая увеличивает сечение поглощения и способность собирать свет и направляет избыточную энергию возбуждения на специализированные формы хлорофилла и каротиноидов, рассеивающие ее в тепло. На стадии формирования фотосинтетического аппарата, когда механизм переноса и диссипации энергии не работает в полной мере,

Принятые сокращения: ABA – абсцизовая кислота; ALA – δ-аминолевулиновая кислота; ALAD – ALA дегидрогеназа; BR – brassinosteroids; Chl – хлорофилл; Chlide – хлорофиллид; CS – хлорофиллсинтаза; ERS – сигналы эндогенной регуляции (endogenous regulation signals); ET – этилен; FHY1, FHL3 и FHL – белки-партнеры фитохрома А (far-red elongated hypocotyl 1 и 3, FHY1-like); FR – дальний красный свет; FRc – непрерывный дальний красный свет; FRp – прерывистый дальний красный свет; Glu TR – глутамил-тРНК-редуктаза; HIR (high irradiance responses) – высокоэнергетические фотоответы; JA – жасмоновая кислота; LFR – низкоэнергетические фотоответы (low fluorescence responses); MC – циклаза монометилового эфира; MgCh – Mg-хелатаза; MgPPMT – Mg-протопорфирина IX метилтрансфераза; Mg-Proto IX – Mg-протопорфирин IX; Mg-Proto IX MME – монометиловый эфир Mg-протопорфирина IX; NTE – N-терминальный конец молекулы (N-terminal extension); PBG – порфобилиноген; Pchl – протохлорофилл; Pchlde – протохлорофиллид; phyA (B, C) – фитохром А (B, C); phyA' и phyA'' – нативные пулы phyA; PIFs – фитохром-взаимодействующие факторы (phytochrome-interacting factors); PLB – проламеллярные тела; PORA (B, C) – протохлорофиллид-оксидоредуктаза А (B, C); Proto IX – протопорфирин IX; Pг и Pг' – формы фитохрома, поглощающие красный и дальний красный свет соответственно; PSI – фотосистема I; PSII – фотосистема II; PT – протилакоиды; R – красный свет; RS – ретроградный сигнал; VLFR – сверхнизкоэнергетические фотоответы.

* Адресат для корреспонденции.

может иметь место фотодеструкция, связанная с появлением фотодинамически активных молекул коротковолновых форм (прото)хлорофилла(-ида).

Растения сводят к минимуму этот негативный эффект путем подавления их накопления и стимулирования их включения в фотосинтетические структуры с использованием сложного механизма восприятия света. Ключевая роль в этом регулировании принадлежит фитохромной системе с фитохромами А и В (phyA и phyB) в качестве основных действующих компонентов. Они координируют скорости синтеза как хлорофилла (Chl), так и связывающих его белков при образовании стехиометрически организованных светособирающих комплексов [1]. Фитохром А играет ведущую роль в раннем фотоморфогенезе проростков и экспрессии генов, тогда как phyB доминирует в зрелых растениях. В условиях преобладания дальнего красного света (FR) только phyA обеспечивает регуляцию фотоморфогенеза растений, в частности, в глубокой тени от плотного лесного полога. Считается, что этот процесс способствовал эволюционным преимуществам высших растений [2, 3].

При освещении светом, обогащенным FR-компонентом, когда индуцированное светом превращение протохлорофиллида (Pchl_{ide}) в хлорофиллид (Chl_{ide}) замедляется из-за низкой абсорбции Pchl_{ide} в этой спектральной области, phyA подавляет накопление активного Pchl_{ide}, который может подвергаться фотопревращению в Chl_{ide} [4–6]. В то же время были получены данные о позитивном регулирующем влиянии phyA на содержание активного Pchl_{ide} в условиях FR-освещения [7–9]. Представляет интерес также тот факт, что знак влияния FR на образование активного Pchl_{ide} – стимулирующий или ингибирующий – зависит от гормонального статуса растения [10]. Кроме того, существование двух молекулярных видов phyA (phyA' и phyA'') с разными типами фотоответа на FR-облучение – сверхнизкоэнергетическими (very low fluence responses, VLFR) и высокоэнергетическими фотоответами (high irradiance responses, HIR) [11, 12] – делает эти регуляторные процессы еще более сложными. Большое значение приобретает проблема регуляторного взаимодействия между phyA и гормональными и другими сигнальными системами растений. Все это в совокупности побудило нас попытаться проанализировать фитохромную регуляцию биосинтеза Chl с акцентом на уникальную роль phyA в этом процессе. Тематика обзора и его рамки были неизбежно предопределены научными интересами авторов, сформировавшимися под влиянием проф. Ф.Ф. Литвина и его новаторских ра-

бот по фотобиофизике фотосинтеза и спектроскопии растительных пигментов (см. ниже). Это обстоятельство и ограниченный объем обзора не позволили нам адекватно представить весь спектр относящихся к его тематике работ, и читателю можно порекомендовать обратиться к недавним обзорам [13–20], связанным с более широкой проблематикой фотоморфогенеза и регуляции фотосинтеза у растений.

БИОГЕНЕЗ СВЕТОСОБИРАЮЩЕГО АППАРАТА ФОТОСИНТЕЗА. СПЕКТРАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ПРОТОХЛОРОФИЛЛИДА И ХЛОРОФИЛЛА(ИДА)

Биогенез нативных форм Chl разделен на два этапа: темновую стадию – образование Pchl_{ide} из его предшественника – δ-аминолевулиновой кислоты (ALA) (см. ниже), и световую стадию – фотопревращение Pchl_{ide} в Chl_{ide} и далее в Chl и его различные формы. Pchl_{ide} представляет собой Mg-содержащий циклический тетрапиррол, который отличается от Chl отсутствием двух атомов водорода в положении 17–18 четвертого пиррольного кольца (кольца D). Таким образом, световая стадия в биосинтезе Chl представляет собой фотохимическое гидрирование полуизолированной двойной связи C17=C18 в молекуле Pchl_{ide}. Световая стадия характерна для высших растений и некоторых споровых растений и голосеменных. У цианобактерий, зеленых водорослей, споровых и голосеменных превращение Pchl_{ide} в Chl_{ide} происходит в темноте.

Во время темновой стадии образуется несколько различных форм Pchl(-ide), что было выявлено при спектроскопических исследованиях этиолированных листьев *in vivo*. Было идентифицировано приблизительно десять спектроскопически различных форм Pchl(-ide): P^{633/628}, P^{643/637}, P^{655/650}, P^{669/657}, P^{682/670}, P^{686–690/676}, P^{697/686}, P^{728/696} (максимум флуоресценции / максимум поглощения) [21–23]. Однако максимальное количество пигмента сосредоточено в трех формах: Pchl_{ide}^{633/628}, Pchl_{ide}^{655/650} и Pchl_{ide}^{643/637} (рис. 1, а). Pchl_{ide}^{643/637} практически неразличим в спектрах флуоресценции благодаря высокоэффективной миграции энергии с этой формы на Pchl_{ide}^{655/650}.

Pchl_{ide}^{655/650} и Pchl_{ide}^{643/637} превращаются в Chl_{ide} при кратковременном освещении даже при очень низких температурах (до 190 К). Коротковолновая форма Pchl_{ide}^{633/628} считается неактивной, т.к. не превращается в Chl(ide) при кратковременном освещении, ее более медленное фотопревращение наблюдается в листьях

растений, обогащенных этой формой, только при температуре выше 5 °С [24–27]. По-видимому, Pchl_{ide}^{633/628} является предшественником основной активной формы Pchl_{ide}^{655/650} [28, 29]. Возможно, эта форма не защищена от фотоокисления по причине ее мономерной природы или из-за отсутствия защитного каротиноидного окружения. Доминирующая активная форма Pchl_{ide}^{655/650} служит основным предшественником хлорофилльных форм светособирающих комплексов двух фотосистем. Она включает два подпула: Pchl_{ide}^{653/648} и Pchl_{ide}^{657/650}. Pchl_{ide}^{653/648} связана с протилакоидами или тилакоидами, тогда как Pchl_{ide}^{657/650} связана с проламеллярными телами (PLB) [29]. Pchl_{ide}^{655/650} представляет собой димер или тетрамер, а более длинноволновые формы Pchl_{ide} предположительно являются более крупными агрегатами пигмента [30]. Эти формы могут поглощать избыточную световую энергию, получаемую от более коротковолновых форм предшественника, таким образом уменьшая их фотодинамическую активность.

Представляет интерес тот факт, что второстепенные длинноволновые формы Pchl_{ide}^{686/676}

и Pchl_{ide}^{682/672} участвуют в биосинтезе реакционных центров фотосистем II (PSII) и I (PSI) [31, 32]. Таким образом, пигментно-белковые комплексы предшественника Chl демонстрируют высокую степень пластичности, которая, вероятно, предназначена для оптимизации адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды, в частности к условиям освещения.

Образование нативных форм Chl включает ряд световых и темновых реакций, последовательных и разветвленных, а также параллельных и пересекающихся через идентичные интермедиаты. Эти реакции приводят к образованию всех пигмент-белковых комплексов реакционных центров и светособирающих комплексов двух фотосинтетических систем [33]. Преобразование Pchl_{ide}^{655/650} в формы Chl_{ide} (рис. 1, б) включает в себя две последовательные фотореакции и несколько последующих темных стадий. Первая фотореакция приводит к образованию Chl_{ide}^{684/676}, который представляет собой смешанный димер Pchl_{ide}–Chl_{ide}. Вторая фотореакция завершает фотовосстановление этого агрегата путем образования димера (или тетра-

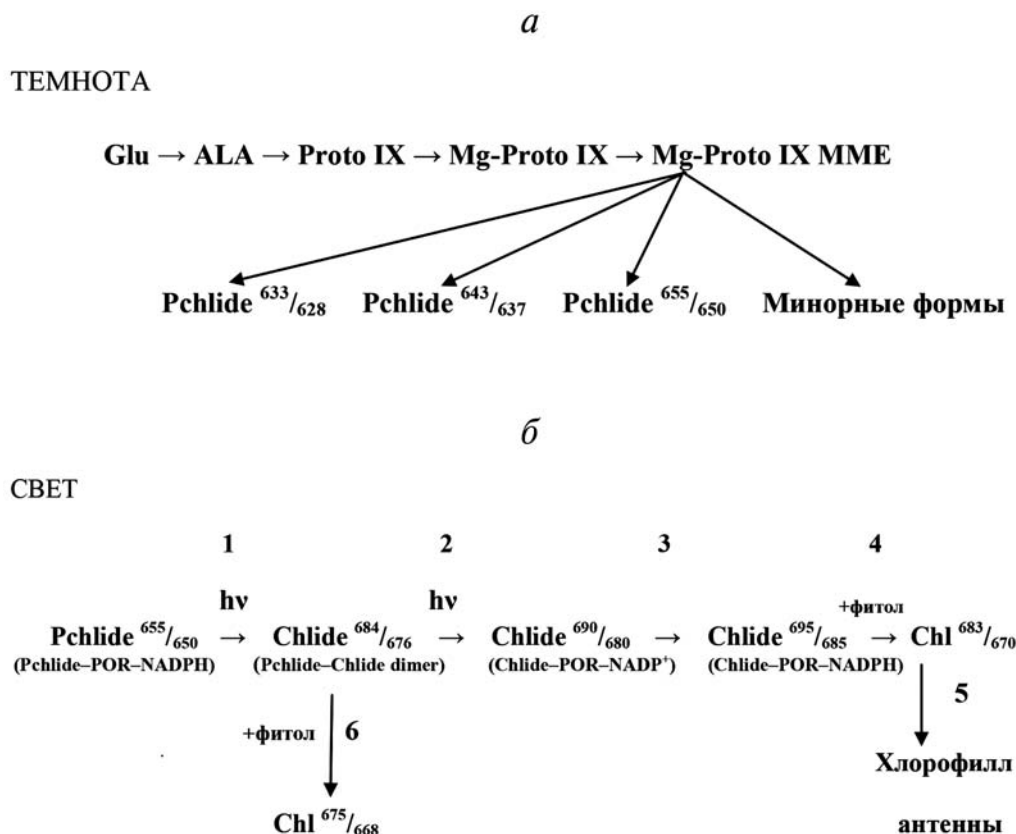


Рис. 1. Упрощенная схема темнового биогенеза протохлорофиллида (а) и превращения пигментных форм в ходе световой стадии биосинтеза хлорофилла (б) у высших растений. Разделенные чертой числа здесь и в тексте обозначают положение максимумов в спектрах флуоресценции/поглощения при низкой температуре для различных пигментных форм. Модифицировано из монографии Беляевой О.Б. [33]

мера) Chlide^{690/680}. Зависимый от температуры спектральный сдвиг Chlide^{690/680} → Chlide^{695/685} (реакция 3 на схеме) не зависит от света и связан с изменениями пигмент-белкового комплекса, включающими восстановление NADP⁺ до NADPH. Реакция 4 – это так называемый коротковолновый «сдвиг Шибаты» с образованием Chl^{683/670}, во время которого происходит дезагрегация протохлорофиллид-оксидоредуктазы (POR, см. ниже) и Chlide и присоединение фитола с образованием Chl с участием хлорофиллсинтазы. Молекула хлорофилла покидает POR и перемещается на другие белки, образуя тилакоидные структуры. Далее, более длинноволновые формы Chl образуются с использованием белков, синтезируемых на темной стадии развития. В точке взаимодействия двух фотореакций (при образовании Chlide^{684/676}) обнаруживается боковой путь, ведущий к более коротковолновой форме хлорофилла Chl^{675/670}. Таким образом, этерификация хлорофилла происходит не только на стадии «сдвига Шибаты», но и с существенно (на порядок) большей скоростью в темной реакции образования Chl^{675/670} из продукта первой фотореакции. Боковая реакция образования Chl^{675/670} протекает со значительной скоростью только при температурах выше 273 К, и этот путь превращения Pchlde доминирует над основным при низкой интенсивности света. Все вышеперечисленные реакции происходят в течение первых 30 минут освещения.

В течение первых 2–4 ч после начала освещения накопление Chl очень низкое. Однако активность фотосинтетических систем наблюдается уже в первые минуты освещения этиолированных листьев, т.е. формирование реакционных центров и их непосредственного окружения происходит в этиопластах раньше, чем накопление основной массы хлорофилла. В этот период происходят критические перестройки пластидных мембран, в т.ч. образование гран [34, 35], и появляется несколько промежуточных форм Chl, отличающихся от форм светособирающих комплексов взрослых зеленых растений [36]. Практически все формы Chl, характерные для зеленого листа, появляются на 4–6-й час после начала освещения. К 16-му часу достигается постоянная относительная концентрация пигмента в формах Chl, характерная для взрослого зеленого растения (бобовые).

В зрелом пигментном аппарате существует энергетическая лестница, образованная уровнями энергии возбуждения форм хлорофилла [37, 38]. Это обеспечивает 80–100% потока поглощенных квантов к форме Chl^{738/698} в PSI, тогда как в PSII терминальными акцепторами энергии (в случае заблокированных реакционных

центров) являются формы Chl^{695/690} и Chl^{703/698} (в бобовых растениях). Существует также эффективная обратная передача энергии между формами Chl^{680/676} и Chl^{686/682} и пути миграции энергии, пропускающие одну или две ступени энергетической лестницы. Передача энергии от каротиноидов к Chl *a* происходит в комплексе двух пигментов. Таким образом, нативные формы Chl и сложные взаимодействия между ними обеспечивают направленный поток энергии к реакционным центрам.

БИОСИНТЕЗ ПРОТОХЛОРОФИЛЛИДА И ЕГО ТЕМНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

Образование Pchlde осуществляется в темноте как многоступенчатый процесс, который является общим для всех тетрапирролов растений. Универсальным предшественником всех циклических (Chl, гем, корриноиды) и линейных (билины) тетрапирролов является δ-аминолевулиновая кислота (ALA). У высших растений, водорослей и ряда фотосинтезирующих бактерий ALA образуется из глутаминовой кислоты. Метаболизм растительных тетрапирролов локализуется в пластидах, и все ферменты цепи биосинтеза кодируются ядерными генами. Первый ключевой этап в биосинтезе тетрапирролов, синтез ALA, включает в себя три последовательные реакции, которые катализируются ферментами глутамил-тРНК-глю-синтетазой, глутамил-тРНК-глю-редуктазой и глутамат-1-полуальдегид-аминотрансферазой.

Второй ключевой этап, образование протопорфирина IX, является точкой разветвления путей биосинтеза гемов и хлорофиллов. Включение магния в порфириновый цикл с образованием Mg-протопорфирина IX (Mg-Proto IX) служит началом цепи хлорофилльной ветви синтеза тетрапирролов. АТФ-зависимая реакция хелатирования катализируется хелатазой магния. Mg-протопорфирин IX превращается в монометилловый эфир Mg-Proto IX (Mg-Proto-IX-MME) с помощью Mg-протопорфирин IX-метилтрансферазы.

Третий ключевой момент в этом процессе – образование Pchlde из Mg-Proto-IX-MME. Синтез молекулы Pchlde синхронизирован с синтезом пигмент-связывающих белков. Образуется проламеллярная структура этиопластов – проламеллярные тела (prolamellar bodies, PLB) и протиллакоиды (prothylakoids, PT), – которая включает в себя белки POR, содержащие Pchlde и функционирующие в качестве фотоферментов в реакции фотовосстановления Pchlde до Chlide [39]. Важно отметить, что существует три вида

POR: PORA, PORB и PORC (см. ниже). Кроме того, POR являются донорами протонов в реакции фотовосстановления Pchl_{id}e [40]. Третий компонент, который необходим для фотовосстановления Pchl_{id}e до Chl_{id}e, — это донор гидрид-иона — NADPH [39]. Образование тройного фотоактивного пигмент-белкового комплекса, включающего Pchl_{id}e, NADPH и фотофермент POR, завершает темновую стадию биосинтеза Chl. На этом этапе должны быть сбалансированы, и соответственно отрегулированы, три ключевых момента, три линии биосинтеза компонентов активного пигмент-белкового комплекса: хромофора Pchl_{id}e, фотофермента POR и донора водорода NADPH.

Регуляция стехиометрически сбалансированного тройного комплекса Pchl_{id}e–POR–NADPH происходит на ключевых этапах биосинтеза тетрапирролов: при образовании 1) ALA, 2) протопорфирина IX и 3) при накоплении комплекса Pchl_{id}e–POR–NADPH. Регуляция биосинтеза ALA в значительной степени осу-

ществляется на метаболическом уровне посредством ретроингибирования конечными продуктами, главным образом, активной формой Pchl_{id}e, Chl_{id}e и гемом [41]. Механизм метаболического сигнала недостаточно изучен, однако было показано, что регуляторный белок FLU участвует в этом процессе, модулируя активность фермента глутамил-тРНК-редуктазы 1 посредством взаимодействия с его геном *HEMA1* [41] (рис. 2, *a*). McCormac и Terry [42] показали важную роль регуляторных белков GUN1 и GUN5 в независимых путях регуляции с обратной связью генов *HEMA1* и *Lhcb*. GUN1 является важным ингибитором экспрессии *HEMA1* в темноте и при насыщающем белом свете. Кроме того, ретроградный сигнал (RS) подавляет транскрипцию фактора GLK1, одного из основных регуляторов транскрипции фотомогенеза [17, 43]. Этот метаболический сигнал участвует в цепи передачи сигнала от пластид к ядру, чтобы регулировать экспрессию ядерного гена в соответствии с функциональным состоянием пластид.

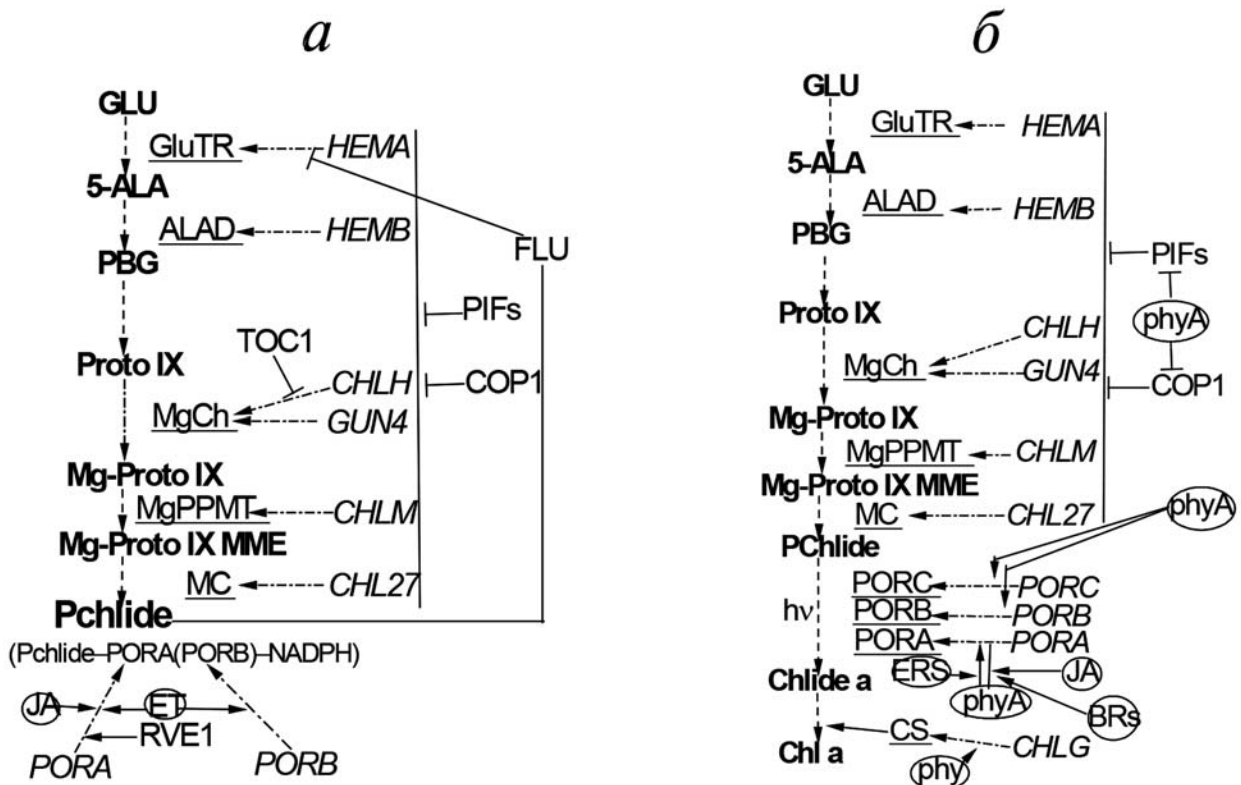


Рис. 2. Схема пути биосинтеза хлорофилла и его регуляции у высших растений в темноте (*a*) и на свету с участием фитохрома (*b*). Реакционные субстраты даны жирным шрифтом, ферменты ключевых реакций подчеркнуты, их соответствующие гены показаны курсивом, рецепторы — гормоны и фитохромы — представлены в овалах, белковые факторы, участвующие в регуляции, обозначены заглавными буквами. Прерывистые линии соответствуют метаболическим шагам, линии с точкой-тире — экспрессии генов, непрерывные линии — регуляции (позитивной со стреловидным концом и негативной с тупым концом). Позитивная или негативная регуляция *PORA* фитохромом А определяется гормонами (*JA* и *BR*) и внутренними регуляторными сигналами (*ERS*), зависящими от вида растения и его органа/ткани

Эти обратные сигнальные процессы от пластид к ядру играют важную роль не только у этиолированных растений, но и у зеленых растений для регуляции экспрессии ядерных генов, где RS является антагонистом фитохрома в регуляции *GLK1* [43]. Существует несколько пластидных цепей передачи сигнала, которые взаимодействуют друг с другом и образуют сигнальную сеть, обеспечивающую взаимосвязь между пластидами и ядром [44].

Переход от ското- к фотоморфогенезу (деэтиоляция) является наиболее уязвимым моментом для растения, т.к. накопление избыточного Pchl_{ide}, не связанного с POR, или других промежуточных продуктов биосинтеза, может привести к фотодеструкции клеток из-за образования активных форм кислорода или свободных радикалов [45, 46]. Поэтому основные гены биосинтеза тетрапирролов в темновой период развития (скотоморфогенез) регулируются негативно [14, 17, 18, 20, 47]. Решающую роль в этой регуляции играют белки PIF (phytochrome-interacting factor), транскрипционные факторы с основным мотивом спираль-петля-спираль, вовлеченные в клеточные процессы в качестве сигнального узла, объединяющего свет, гормоны и другие множественные сигналы развития [16, 48]. Негативные фитохром-взаимодействующие факторы PI – PIF1, PIF3, PIF4 и PIF5 – накапливаются в ядре в темноте и подавляют фотоморфогенные реакции, включая биосинтез Chl.

Другим ключевым регулятором экспрессии генов биосинтеза тетрапирролов (tetrapyrrole biosynthesis, TPB) является белок COP1, который негативно регулирует HY5 – фактор, стимулирующий транскрипцию практически всех генов, кодирующих ферменты биосинтеза тетрапирролов [49]. Кроме того, транскрипционный фактор TOC1 репрессирует ген *CHLH*, кодирующий одну из трех субъединиц Mg-хелатазы путем прямого связывания с промотором генов [50]. Гиббереллины, накопленные в темноте, способствуют активации PIF путем деградации белков DELLA и освобождения PIF от ингибирования этими белками [51]. Таким образом, активация негативных регуляторов и инактивация позитивных регуляторов могут поддерживать низкую экспрессию ключевых генов TPB в темноте. С другой стороны, накопление достаточного количества POR, которая связывает свободные молекулы Pchl_{ide}, обеспечивает защиту растения от фотодеструкции. Это является причиной позитивной регуляции генов *PORA* и *PORB* в этиолированных проростках, что происходит при участии фитогормона этилена и факторов транскрипции COP1, EIN3, ABI4 и RVE1 [18, 52].

СВЕТОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА ХЛОРОФИЛЛА. ФИТОХРОМЫ

Механизмы действия фитохрома А (phyA). Два нативных типа phyA. При переходе из темноты на свет у растения происходит существенная реорганизация всей его биологии, включая регуляторный механизм со всеми его светозависимыми генами, кодирующими ключевые ферменты биосинтеза пигментов и связывающих их белков (рис. 2, б). Среди систем фоторецепторов разной природы, образующих совершенный аппарат восприятия светового сигнала у растений, фитохром занимает центральное место из-за его функциональной значимости и более продвинутого изучения.

Фитохромы представляют собой продукты небольшого семейства генов с *phyA* и *phyB*, являющимися наиболее важными ее членами. *phyA* содержится в относительно больших количествах в этиолированных тканях, что позволило провести глубокие исследования *in vitro* его молекулярной структуры и физико-химических свойств. Этот пигмент представляет собой растворимый в воде билипротеин, молекула которого является гомодимером с мономерами, состоящими из трех главных доменов (рис. 3) [53]: 1) N-концевого фоторецепторного домена (70 кДа), 2) C-концевого домена (55 кДа), ответственного за димеризацию и трансдукцию сигнала, и 3) гибкой области связи между этими двумя доменами. Важное значение для свойств *phyA* имеет также крайний участок размером 10 кДа в N-конце молекулы (N-terminal extension, NTE), ответственный за его функциональную активность [54], киназные свойства и световую стабильность [55], а также дифференциацию пигмента на два нативных его подтипа (*phyA'* и *phyA''*) [11, 56].

Пигмент может находиться в одном из двух фотообратимых состояний – в исходном, максимально поглощающем красный (R) свет (состояние или форма Pr), в котором он синтезируется и находится в цитоплазме в темноте, а также в физиологически активном состоянии (Pfr) с максимальным поглощением в FR-области. Цикл превращения фитохрома Pr ↔ Pfr запускается реакциями фотоизомеризации хромофора в этих состояниях [57, 58]. При освещении фоторецептор в активной форме Pfr переносится из цитоплазмы в ядро, где индуцирует фоторегулируемые гены и инициирует таким образом фотоморфогенез [59].

phyA не гомогенен, он представлен в этиолированных тканях одно- и двудольных растений двумя нативными пулами – *phyA'* and *phyA''* [11, 56]. *phyA'* является основным и светолабильным, тогда как *phyA''* – минорный, насыщаемый

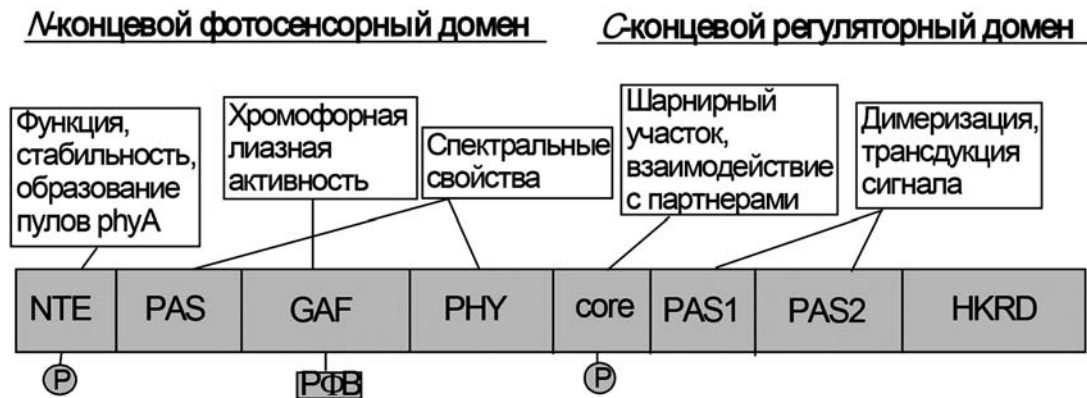


Рис. 3. Схема молекулы фитохрома А. Она состоит из двух мономеров, включающих в себя три домена: 1) фоторецепторный N-домен (70 кДа), образованный четырьмя консервативными подчастями: хромофорный участок GAF с фитохромобилином (phytochromobilin, ПФВ), PAS и PHY, определяющие спектральные и фотохимические свойства, а также 10-кДа N-концевой участок (N-terminal extension, NTE), ответственный за ряд ключевых свойств фоторецептора; 2) гибкий шарнирный участок, связывающий N- и C-домены; 3) регуляторный C-домен (55 кДа) с поддоменами PAS1 и PAS2, участвующими в димеризации и трансдукции сигнала, а также поддоменом со свойствами гистидинкиназы (HKRD), функции которого не определены

по концентрации и относительно светостабильный. Они различаются по спектральным и фотохимическим свойствам: phyA' и phyA'' являются, соответственно, длинноволновым и коротковолновым типами, способными (Pr') и неспособными (Pr'') к фотоконверсии в первичный фотопродукт (Pr → lumi-R) при криогенных температурах (рис. 4). Последнее свойство позволяет осуществлять количественные определения их концентрации и описывать их свойства в растительных тканях *in vivo* с использованием флуоресцентной спектроскопии и фотохимии. Важно отметить, что при комнатной температуре глубина превращения Pr → Pfr у двух пулов мало отличается (0,80–0,85 у phyA' против 0,75 у phyA''). Исследование этих пулов в трансгенных растениях и в гетерологических системах (*Pichia pastoris* и *Escherichia coli*) показали, что они являются продуктами одного и того же гена и различаются состоянием фосфорилирования: phyA' является фосфорилированной формой, а phyA'' – дефосфорилированной. Кроме этого, phyA' водорастворим, тогда как phyA'' – мембраносвязанный пигмент. Эти феноменологические и физико-химические различия между двумя пулами phyA с определенностью указывают на возможное их функциональное различие (см. ниже). Следует отметить, что phyB, в отличие от phyA, представлен в растениях только одним типом, сходным по феноменологическим свойствам с phyA'.

Трансдукция светового сигнала с участием phyA включает в себя его перенос в форме Pfr из цитоплазмы в ядро, который происходит после его ассоциации с белками-партнерами FHY1 (far-red elongated hypocotyl1) и FHL (FHY1-like)

[59] (рис. 5), поскольку сигнал ядерной локализации (nuclear localization signal, NLS) у него отсутствует. В ядре активация позитивных фотоморфогенетических факторов (HY5, HYH,

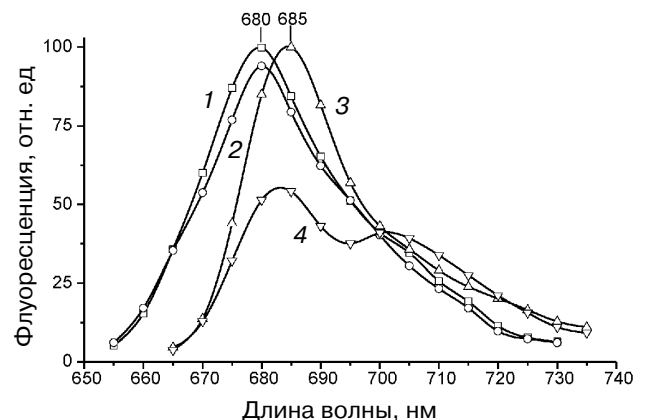


Рис. 4. Спектры излучения флуоресценции (85 К, $\lambda_{ex} = 632,8$ нм) фитохрома в кончиках корней (положение максимума, $\lambda_{max} = 680$ нм) (1, 2) и кончиках coleoptилей ($\lambda_{max} = 685$ нм) (3, 4) этилированных проростков пшеницы, измеренные сразу после замораживания в темноте, когда весь пигмент находится в форме Pr (1, 3), и после насыщающего красного освещения ($\lambda_a = 632,8$ нм), частично превращающего Pr в lumi-R, первый стабильный при низкой температуре фотопродукт (состояние фоторавновесия между Pr и lumi-R) (2, 4). Обращает на себя внимание разница в положении спектра (λ_{max}) и глубина фотопревращения Pr → lumi-R (γ_1), определяемая как относительное падение интенсивности в максимуме, 680 нм и 0,05, соответственно, для корней и 685 нм и 0,46 – для coleoptилей. Эти спектры кончиков coleoptилей и корней представляют собой, соответственно, два нативных типа phyA, phyA' и phyA''. Спектры не исправлены на спектральную чувствительность спектрофлуориметра. Адаптировано из статьи Sineshchekov V.A. [56]

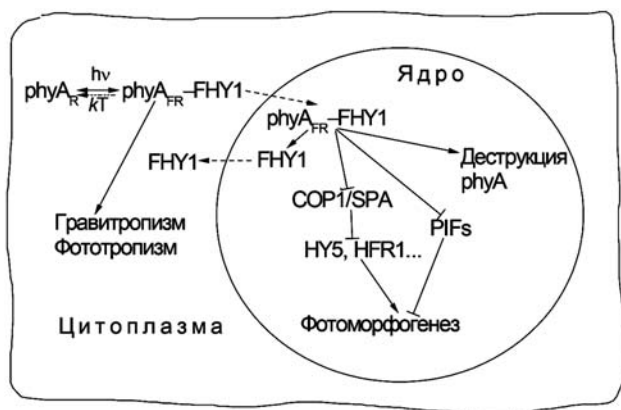


Рис. 5. Упрощенная схема механизма действия *phyA*. *phyA* в своем состоянии P_r претерпевает фотоизомеризацию при освещении, превращающем его в состояние P_{fr}. Это сопровождается ассоциацией фоторецептора с партнером-протеином FHY1 (или его аналогом FHL) и их переносом в ядро. P_{fr}-FHY1 взаимодействует там с комплексом COP1/SPA, дезактивируя его, и образует комплексы с факторами транскрипции (NY5, PIF3, HFR1, LAF1), которые в темноте разрушаются под действием COP1/SPA, но накапливаются на свету. Эти комплексы регулируют экспрессию широкого спектра генов. Другая ветвь сигнала P_{fr} включает деструкцию взаимодействующих с фитохромом факторов PIF, которые препятствуют экспрессии светорегулируемых генов в темноте. В цитоплазме *phyA* в форме P_{fr} модифицирует фото- и гравитропизм и опосредует быстрые биохимические процессы

HFR1, CIP7 и LAF1) осуществляется путем подавления формой P_{fr} негативной регуляции со стороны комплексов COP1/SPA (constitutive photomorphogenetic 1/suppressor of *phyA*-105) и замедления работы комплекса E3 (убиквитин), который в темноте разрушает факторы транскрипции, необходимые для фотоморфогенеза [60]. В соответствии с работами Yang et al. и Chen et al. [61, 62], FHY1 может играть значительную роль в этом процессе, образуя различные сложные факторы транскрипции – комплексы *phyA*-FHY1 с NY5, PIF3, HFR1 и LAF1. Молекулярный механизм инактивации комплекса COP1/SPA под действием *phyA* и *phyB* включает прямое взаимодействие их формы P_{fr} с SPA1 и другими SPA-белками, что приводит к их разрушению и реорганизации [60]. С другой стороны, *phyA* ингибирует PIF [63] и родственные белки HFR1 и PIL1 [64] путем их фосфорилирования, сопровождающегося убиквитированием и деградацией [48]. Активизация фитохромом А факторов транскрипции в результате этих двух процессов – активации позитивных и ингибирования негативных факторов – приводит к экспрессии более тысячи генов, участвующих в фотоморфогенезе (см. выше, а также [3, 16]).

Наиболее выраженным функциональным отличием *phyA* от других фитохромов является

его исключительная ответственность за опосредование атипичных необратимых VLFR и HIR, инициируемых FR-светом. VLFR могут быть индуцированы кратким прерывистым освещением и насыщаться при очень низких относительных концентрациях P_{fr} ([P_{fr}] ≤ 0,1%), тогда как эффекты HIR достигаются при освещении постоянным светом или светом относительно высокой частоты [3]. Максимум в спектре действия фотоответов HIR расположен между максимумами поглощения форм P_r и P_{fr} (~710 нм) в области, где достигается максимальная концентрация P_{fr} в ядре в процессе челночного движения *phyA* из цитоплазмы в ядро с помощью FHY1 и FHL [65]. Наряду с этими типами фотоответов *phyA* осуществляет также классические, индуцированные красным светом и обратимые дальним красным светом, низкоэнергетические фотоответы (low fluence responses, LFR), которые характерны для *phyB* [9, 66].

Проявление фотоответов VLFR и HIR зависит от состояния фосфорилирования пигмента в области NTE, на что указывают исследования мутантов *phyA* табака, риса и арабидопсис, экспрессированных в трансгенный арабидопсис: делеционных и с заменой серина на аланин (Ser/Ala) [66–68]. Исходя из того, что замена Ser/Ala препятствует фосфорилированию молекулы *phyA* в области NTE, было сделано предположение о роли фосфорилирования в определении того или иного *phyA*-зависимого типа фотоответов [66]. Мутация в домене PAS2 с заменой глутамина на лизин (Glu777Lys) предотвращает фотоответы HIR, но не влияет на ответы VLFR, что свидетельствует об участии этого молекулярного участка в определении функциональной специфичности *phyA* [69]. Различия между двумя типам фотоответов локализованы также ниже по цепи трансдукции светового сигнала [3]. Таким образом, *phyA* оказывается способным передавать световой стимул по различным путям. С другой стороны, в наших экспериментах было показано, что замена Ser/Ala в NTE и доминирование вследствие этого HIR [66] коррелируют с исчезновением пула 3, и на основании этого HIR был отнесен к *phyA*“, тогда как VLFR – к *phyA*' [11, 12]. Таким образом, мы должны принимать во внимание эту функциональную гетерогенность *phyA* в нашем анализе фоторегулирования биосинтеза Chl и формирования фотосинтетического аппарата.

Опосредованное фитохромом А регулирование биосинтеза хлорофилла. Изучение проблемы регуляции биосинтеза Chl с участием *phyA* встречает трудности, связанные с разделением эффектов от светоиндуцированного превращения Pchl_{ide}⁶⁵⁵ в Chlide от таковых, связанных с акти-

вацией фитохрома. Методология, направленная на преодоление этой трудности, включает три основных подхода: во-первых, использование традиционной для фотофизиологии фитохрома обратимости эффектов на действие R/FR света; во-вторых, использование фитохромных мутантов и мутантов с нарушениями цепи трансдукции сигнала; и в-третьих, эксперименты при действии дальнего красного света неактивного в фотоконверсии PChlide \rightarrow Chlide, но эффективного в активации phyA.

Первый ключевой регуляторный шаг в биосинтезе Chl связан с формированием ALA (см. выше и рис. 2, а). При переносе проростка из темноты на свет обнаруживается стимуляция накопления ALA [70, 71]. В позитивной световой регуляции накопления хлорофилла на этом начальном участке его биосинтеза принимает участие фитохром [72]. Позднее Terry et al. проследили координированный синтез хлорофилла и хлорофилл а/б-связывающего белка и показали, что экспрессия *HEMA1* и *Lhcb* регулируется фитохромами, действующими по типу фоточувствительности HIR и LFR [42, 73, 74] (рис. 2, б). Недавно Tang et al. идентифицировали два транскрипционных фактора — FHY3 (far-red elongated hypocotyl 3) и FAR1 (far-red impaired response 1) — в качестве позитивных регуляторов биосинтеза хлорофилла в *Arabidopsis* [75]. FHY3 связывается непосредственно с промотором и активирует экспрессию гена *HEM1*, который кодирует дегидратазу δ -аминолевулиновой кислоты (aminolevulinic acid dehydratase, ALAD) на пути биосинтеза хлорофилла. FHY3 физически взаимодействует с негативным транскрипционным регулятором PIF1 для координации синтеза Pchlide и зеленения проростка.

Другая ключевая регуляторная точка связана с образованием конечного продукта темновой стадии биосинтеза — комплекса Pchlide–POR–NADPH (рис. 2, а). Установлено, что фитохром опосредует уменьшение содержания мРНК POR при освещении этиолированных листьев [76]. Были обнаружены две изоформы POR, PORA и PORB [77], одна из которых (PORA) негативно регулируется светом, а другая (PORB) относительно светонезависима. Третья изоформа POR, PORC, была обнаружена в зеленых тканях *Arabidopsis*, эта форма проявляла позитивную зависимость от интенсивности действующего света [78, 79]. Число генов *POR* варьирует в различных видах растений, хотя некоторые растения имеют только один ген *POR* (см. ссылки в монографии Беляевой [33]). При определенном световом режиме растения могут использовать преимущественно один из трех ферментов для поддержания оптимального уровня синтеза Chl.

После конверсии Pchlide в Chlide происходит ряд последовательных реакций, связанных с изменением пигмент-белкового комплекса (см. выше и рис. 1). На стадии «сдвига Шибаты» осуществляется дезагрегация Chlide и POR и этерификация Chlide. Скорости этерификации Chlide [80, 81] и «сдвига Шибаты» [82] могли быть увеличены с помощью предосвещения этиолированных проростков импульсами красного света, при этом эффект обращался импульсом дальнего красного света. Однако глубина эффектов была различна для скорости двух процессов (спектрального сдвига и этерификации Chlide). Исходя из этого, авторы пришли к выводу, что фитохром (наиболее вероятно phyB, судя по их R/FR-обратимому характеру, хотя phyA не может быть исключен) независимо контролирует этерификацию Chlide и «сдвиг Шибаты». Было также показано, что фитохром значительно стимулирует регенерацию Pchlide, ингибированного с помощью обратной негативной связи [72, 83], а также увеличивает скорость образования апопротеинов и количества рецепторных сайтов для связывания молекул хлорофилла [84] (рис. 2, б). Следует отметить, что экспрессия ядерных генов, кодирующих различные белки хлоропластов, может негативно регулироваться уровнем накопления Chl или его предшественника [85].

Мутации с нарушением регуляции развития растений в темноте (scotomorphogenesis), сопровождающиеся частичным переходом к световому развитию (photomorphogenesis), были особенно полезным инструментом в раскрытии механизмов трансдукции светового сигнала от фитохромов [86, 87]. Эти мутанты (*cop*, *det*, *fus*, *lip*) имели нарушения в системе подавления фотосинтетических генов, включающей комплексы COP1/SPA. Продукты мутировавших генов (COP, DET, FUS, LIP) в соответствующих растениях дикого типа подавляют фотоморфогенетический тип развития в темноте, включая накопление тетрапирролов. Sperling et al. исследовали такой мутант (*Arabidopsis cop1-18*, ранее *det340*) на предмет определения роли PORA и PORB в формировании проламеллярных тел (PLB) и образования Pchlide^{655/650} во время скотоморфогенеза и показали, что гены *PORA* и *PORB* взаимозаменяемы в этих процессах [88]. В контексте данного обсуждения представляет интерес мутант гороха с независимым от света фотоморфогенезом *lip1* [89], т.к. горох имеет менее сложную систему фитохромов (только phyA и phyB) [90] и один тип POR [91]. У этого мутанта присутствуют агранальные пластиды с протилакоидами, PLB не сформированы (в отличие от проростков дикого типа с этиопластидами и PLB), доминирует форма Pchlide^{632/628} и активная форма Pchlide^{655/650}

подавлена [26, 89]. На основе анализа этого мутанта Seyyedi et al. [26] пришли к выводу, что накопление POR (у гороха) не является достаточным условием для образования PLB и Pchl⁶⁵⁵/₆₅₀, и для этого необходимы другие неустановленные регуляторные факторы. Мутант был также охарактеризован по состоянию phyA в нем [89, 92]. Его содержание в мутантных растениях было ниже, чем в растениях дикого типа в 3–10 раз в зависимости от органа/ткани и возраста растений, но без изменения соотношения phyA/PHYA. Эти эффекты в мутантных растениях рассматриваются как результат активации цепи трансдукции фитохромного сигнала в темноте. Представляет интерес тот факт, что мутация *lip1* не затрагивает фитохром в корнях, что указывает на органо/тканевую специфику регуляции экспрессии гена *PHYA* [92].

Дальнейший генетический анализ мутантов с нарушением в цепи трансдукции фитохромного сигнала выявил взаимодействующие с фитохромом факторы (PIF) в качестве негативного регулятора биосинтеза хлорофилла. Было показано, что PIF1 подавляет ключевые регуляторные гены биосинтеза хлорофилла в темноте и прорастание семян под дальним красным светом [16, 48, 93]. Уровни Pchl⁶⁵⁵ и POR в темноте также контролируются факторами PIF, и этот эффект подавления обращается светом посредством протеолиза PIF [16]. Было установлено, что PIF1 играет аналогичную роль в синтезе каротиноидов (скоординированном с биосинтезом хлорофилла и развитием хлоропластов), подавляя в темноте ген фитоенсиназы (phytoene synthase, PSY) — основного фермента, определяющего скорость биосинтеза каротиноидов и ускоряющего его при освещении [94].

Специфика биосинтеза Chl и его регулирования фитохромом А под действием дальнего красного света. Фотофизиология растений, растущих под пологом леса в условиях глубокой тени при освещении светом с преобладанием в нем дальнего красного компонента, может быть охарактеризована тремя существенными чертами: замедленным накоплением Chl, разбалансированностью двух фотосистем фотосинтеза в пользу PSI и доминированием phyA в качестве фоторецептора. Тем не менее высшие растения преодолели эти трудности путем скоординированного действия ряда факторов, оптимизирующих их физиологию даже в этих неблагоприятных естественных условиях. Однако в условиях лаборатории при строгом дальнем красном освещении (постоянном или прерывистом при $\lambda_a \geq 700\text{--}720$ нм) превращение Pchl⁶⁵⁵ в Chl⁶⁵⁵ невозможно, и эффект действия phyA может быть исследован *per se* [4, 5, 88]. Мутанты (томатов *fri*), дефицитные по

phyA, оказались полностью нечувствительными к ингибированию роста гипокоты под FR [4]. Проростки мутантов *fri* и дикого типа, выращенные в темноте, зеленели при переносе на белый свет. Однако, при выращивании под FR растения дикого типа теряли способность в дальнейшем зеленеть под действием белого света, тогда как мутанты *fri* зеленели нормально.

Сходную картину наблюдали Barnes et al. на мутантах *Arabidopsis*, дефицитных по phyA и по компонентам цепи трансдукции сигнала от phyA (*phy1*), что подразумевает эволюционное сохранение между разными видами phyA-зависимого механизма регулирования этих процессов [5]. Было также установлено, что phyA после освещения проростков FR не только ингибировал накопление Chl при их последующем освещении красным или белым светом, но и вызывал их гибель после такой предварительной обработки FR [4, 5]. У растений гороха, подвергнутых постоянному освещению FR, наблюдали повышенное накопление пластидных РНК и ДНК [95]. Опосредованное phyA подавление гена *POR*, а также накопление большой субъединицы Rubisco под FR было продемонстрировано на растениях табака (*Nicotiana tabacum* L.) [96]. Эти стимулированные светом FR ответы относятся к опосредованному phyA типу HIR [97].

Все эти данные дают основание заключить, что ингибирование биосинтеза Chl под красным и белым светом является следствием регуляторной активности phyA в проростках во время их роста под дальним красным светом. Barnes et al. интерпретировали этот эффект как результат жесткого подавления экспрессии генов *POR* под FR, сопряженного с необратимым повреждением пластид, что приводило к разделению скоординированного в норме и опосредованного фитохромом подавления *POR* и светозависимого восстановления протохлорофиллида [5]. Действительно, проростки дикого типа *Arabidopsis*, выращенные под постоянным дальним красным светом (FRc) [5, 98, 99], а также выращенные в темноте проростки фотоморгенетического мутанта *det340* [100], не имеют *PORA*, мРНК *PORA*, фотоактивного Pchl⁶⁵⁵/₆₅₀ и PLB и не способны зеленеть нормально на белом свету. В то же время оверэкспрессия *PORA* или *PORB* в *Arabidopsis* позволяет преодолеть индуцированный FRc блок зеленения, вызванный фотоокислительным повреждением пластид на белом свету [88]. Таким образом, блокирование зеленения объясняется отсутствием продуктов генов *POR* и Pchl⁶⁵⁵/₆₅₀ и избыточным накоплением свободных молекул Pchl⁶³³/₆₂₈, потенциального сенсibilизатора фотоокислительного повреждения [5, 88, 98, 99, 101].

Проводя исследования в этом направлении, McCormac и Terry проследили экспрессию гена *HEMA1* в ходе опосредованного *phyA* и индуцированного FR блока зеленения под белым светом у *Arabidopsis* [74]. Этот эффект состоял из двух отдельных ответов: один был вызван потерей экспрессии генов *HEMA1* и *Lhcb* (транскрипционно-связанный ответ), а другой ответ оказался транскрипционно-несвязанным. Последний коррелировал с дерегуляцией синтеза тетрапирролов и фотоокислительным повреждением пластид. Оба эффекта приводили к потере экспрессии ядерных генов и были ингибированы оверэкспрессией *POR*. Исходя из этого, авторы выдвинули положение о роли пластидного сигнала в индуцированных FR процессах. Дальнейшие исследования [42] показали, что регуляторный механизм с обратной связью от функционирующих пластид необходим для нормального развития хлоропластов. Эти авторы проследили экспрессию трех ядерных генов, *Lhcb*, *HEMA1* и *GSA*, под действием предосвещения FR и показали, что *Lhcb* был в наибольшей степени подавлен, и белок GUN1 был доминирующим в пластидном регулировании (с обратной связью) гена *HEMA1*. Следует отметить, что Terry et al. недавно предложили новую модель, в которой сигнал от химически активного синглетного кислорода, генерированного предшествующим хлорофилла, ингибирует экспрессию ключевых фотосинтетических генов и генов синтеза хлорофилла с целью предотвращения фотоокислительного повреждения в ходе деэтиляции [102].

Говоря о фотопревращении Pchl_{ide} в Chl_{ide} под действием света, обогащенного по компоненту FR, следует отметить что эти световые условия соответствуют специфическому типу фотопревращения, которое происходит под действием света низкой интенсивности (см. выше и рис. 1). Существует побочный путь образования Chl — образование коротковолновой формы Chl^{675/670}, которая становится основной при низких интенсивностях света [103]. Это должно соответствовать условиям роста растений под светом, богатым FR и с относительно небольшим вкладом фотохимически активного света в области 650 нм (например, в глубокой тени от листового покрова). В этих условиях эта побочная ветвь превращения Pchl_{ide} может становиться основной, что требует экспериментальной проверки.

Изменение знака регуляции фитохромом А биосинтеза хлорофилла. Функциональное взаимодействие *phyA* и гормонов. Как обсуждалось выше, FR подавляет накопление *POR* и Pchl_{ide}^{655/650}, вызывает деструкцию PLB и ингибирует после-

дующее зеленение под белым светом, эффекты, относящиеся преимущественно к HIR. Однако это может быть не универсальным феноменом: он хорошо задокументирован у однодольных [76, 104], но у двудольных он менее четко определен [105, 106]. В соответствии с данными Meyer et al. [7], предложенная негативная регуляция светом образования хлорофилла и активности *POR* не может быть принята как общее положение для всех высших растений. Были обнаружены разнообразные эффекты действия света на *POR* у различных видов растений, что интерпретировано как проявление суперпозиции негативной регуляции *PORA* и конститутивной экспрессии *PORB* [78]. Однако ситуация может быть более сложной. Эта гипотеза не объясняет, в частности, сложной динамики *POR*: негативное действие света сменялось позитивным в развивающихся листьях гороха [107], содержащих только один тип *POR* [91].

В наших экспериментах знак и глубина действия FRc на накопление Pchl_{ide}^{655/650} зависели от вида растения, а также от использованных органов/тканей [8]. В семядолях томата и *Arabidopsis*, выращенных под FRc, наблюдали падение содержания Pchl_{ide}^{655/650} в соответствии с данными Runge et al. [98] и Barnes et al. [5] (рис. 6). Эти эффекты, полученные на двудольных растениях, были подтверждены экспериментами на однодольном рисе (*Oryza sativa* L. cv. Nipponbare) и его мутантах, дефицитных по *phyA*, *phyB* или *phyAphyB* [108]. FRc вызывал резкое падение как Pchl_{ide}^{633/628}, так и Pchl_{ide}^{655/650} у растений дикого типа и у мутанта по *phyB*, укорочение колеоптиля и появление первого листа, тогда как прерывистый дальний красный свет (FRp) той же дозы был малоэффективен. Это позволило отнести эти ответы к типу HIR в согласии с Yanovsky et al. [69]. Однако на семядолях табака и листьях гороха, а также верхних частях стеблей всех исследованных растений (табака, гороха, томата и *Arabidopsis*) наблюдали положительный эффект действия FRc разной интенсивности на накопление Pchl_{ide}^{655/650} (рис. 6). Следует отметить, что разный знак действия FRc на Pchl_{ide}^{655/650} не связан с доступностью хромофора Pchl_{ide} [109].

Эти вариации эффекта света FRc напоминают световую регуляцию мРНК *phyA* [110]. Авторы обнаружили три транскрипта *PHYA*, синтез которых по-разному регулируется в зависимости от их локализации в растении. Это было интерпретировано как проявление того факта, что ген *PHYA* является объектом регуляции различными сигналами: сигналами от окружения и сигналами, связанными с развитием растений и зависимыми от органа/ткани. Можно предполагать существование сходных свойств и в случае

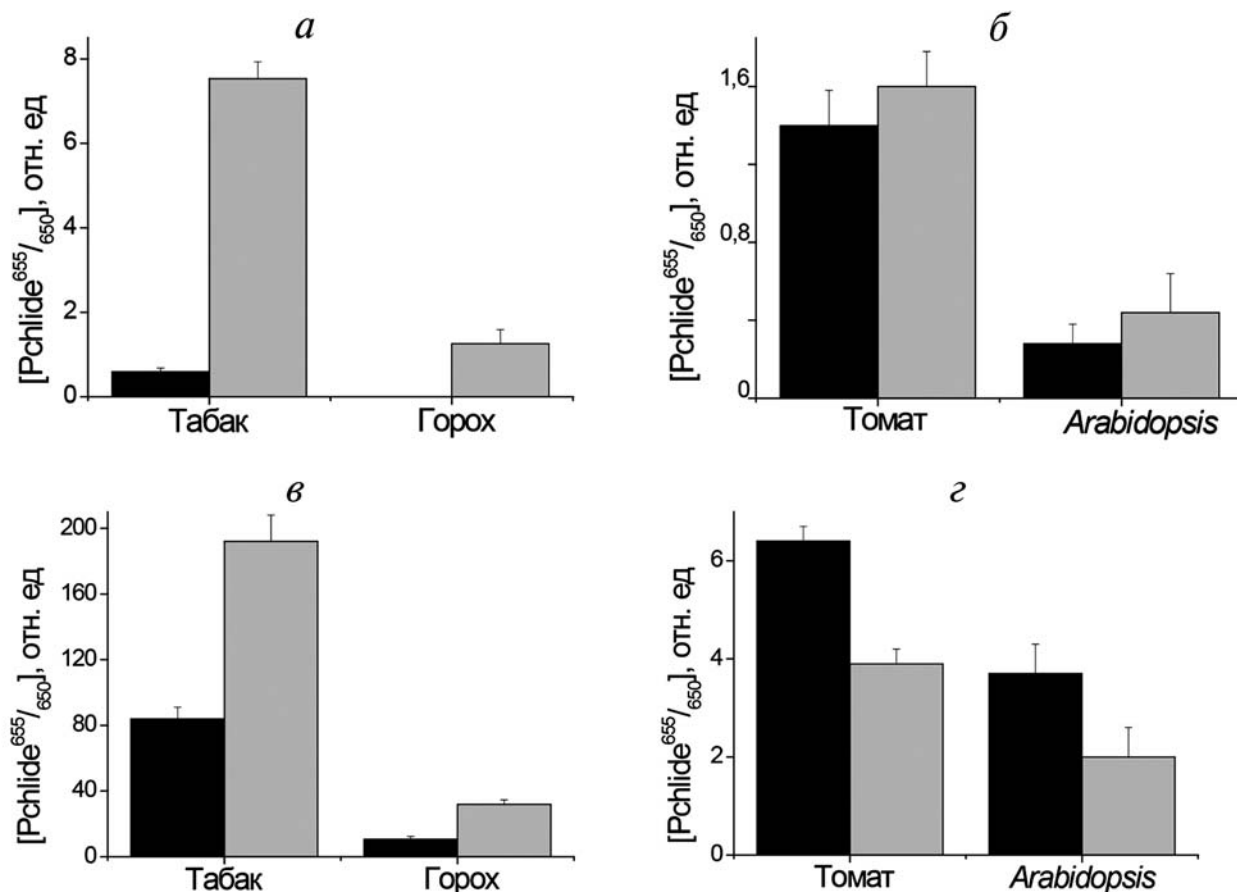


Рис. 6. Содержание активного протохлорофиллида Pchlidge^{655/650} в этиолированных (левые темные столбцы) и выращенных под дальним красным светом (правые серые столбцы) проростках табака, гороха, и *Arabidopsis*: (а, б) – их гипокотили и (в, г) – их семядоли, а также первичные листья гороха. Адаптировано из статьи Sineshchekov et al. [8]

гена *POR*. Armstrong et al. [78] отмечают также аналогию между *PORA*, негативно регулируемой светом, и конститутивно экспрессированной *PORB*, соответственно, со светорегулируемым *phyA* и относительно светостабильным *phyB*. Существует, по-видимому, общий механизм, позволяющий различать два типа световой регуляции. Таким образом, мы можем заключить, что знак действия *phyA* на экспрессию гена *POR* (т.е. его индукция или репрессия) и его глубина модулируются сигналами, специфичными в отношении вида растения, а также его органа/ткани.

Обращает на себя внимание следующее наблюдение на мутантном растении, дефицитном по *phyA* [108]. Содержание Pchlidge^{633/628} и Pchlidge^{655/650} было таким же, что и у дикого типа в темноте и не изменялось под действием FRp. Однако при освещении FRc концентрация Pchlidge^{655/650} увеличивалась на 100%, что указывает на возможное участие *phyC* в этой регуляции (по типу NIR), но ее знак иной: индукция накопления вместо подавления, как это наблю-

дается для *phyA*. Эти результаты согласуются с данными Takano et al. [9, 111], которые наблюдали положительную регуляцию FRC в отношении светозависимых генов, кодирующих хлорофилл a/b-связывающий белок (CAB) у *phyA*-дефицитного мутанта риса и отсутствие его в двойном мутанте *phyAphyC*. Таким образом, знак эффекта FRC в отношении биосинтеза активного протохлорофиллида зависит также и от фоторецептора – фитохрома *phyA* или *phyC* в нашем случае.

В современных исследованиях фитохрома взаимосвязь между световым и другими сигналами становится одной из центральных тем [15, 87, 112, 113]. В частности, фитогормоны непосредственно вовлечены в регуляторные процессы с участием *phyA*, определяя знак действия света на биосинтез Chl. Kobayashi et al. [18] наблюдали противоположное влияние ауксина/цитокинина на регуляцию накопления Chl в корнях *Arabidopsis*: репрессию ауксином и стимуляцию цитокинином. В экспериментах Roy et al. [114] фитохром индуцировал подавление биосинтеза

Chl в этиолированных листьях (риса) при освещении красным светом высокой интенсивности основания побега, что было вызвано снижением накопления ALA. Авторы приписали наблюдаемый эффект *phyA* и R-индуцированному типу HIR. Возможное участие гормонов могло бы объяснить пространственно-разобщенный характер эффекта. Cheminant et al. [51] показали решающую роль регулируемых гибберелинами (gibberellin, GA) белков DELLA в формировании функционирующих хлоропластов в ходе деэтиоляции. Эти белки регулируют уровень POR, Pchl_{ide} и каротиноидов в темноте путем репрессирования PIF. Регуляция с участием гормона этилена интегрируется с регуляцией фитохромом в результате взаимодействия PIF и факторов транскрипции EIN3/EIL1 в сигнальной цепи от этилена. Последний индуцирует экспрессию генов *PORA* и *PORB*, подавляет накопление Pchl_{ide} и в общем интенсифицирует зеленение проростков [115]. Этилен активирует также PIF3 посредством фактора EIN3, что приводит к стимуляции роста растения на свету и его ингибированию в темноте. Свет, таким образом, обращает знак действия этилена [113].

В наших экспериментах [10] связь между сигналом от *phyA* и действием гормонов была установлена в результате обращения знака регуляторного действия *phyA* на накопление Pchl_{ide}^{655/650} в мутанте риса (*Oryza sativa* L. Japonica cv. Nihonmasari) *hebiba*, дефицитного по жасмоновой кислоте (jasmonic acid, JA) – гормону, который вовлечен в ответы на биотические и абиотические стрессы, такие как ранения и защита от них [116]. В темноте этот мутант имел длинный мезокотиль и короткий колеоптиль, тогда как ситуация была обратная под действием FRC ($\lambda_a > 720$ нм) – проросток обладал коротким мезокотилем и длинным колеоптилем. Активность FRC доказывает участие в этих световых эффектах *phyA*, но со знаком, отличным от наблюдаемого на диком типе риса: короткий колеоптиль и даже появление первого листа под действием FRC [10, 116]. В темноте содержание *phyA'* и *phyA''* было одинаковым в диком типе и в *hebiba*, что указывает на отсутствие влияния JA на скорость синтеза *phyA* и его дифференциацию на подпулы. При освещении FRC концентрация *phyA* уменьшалась в диком типе и отношение *phyA'/phyA''* смещалось в сторону *phyA'*. Однако у *hebiba* светоиндуцированное падение содержания *phyA* было менее выражено и отношение между *phyA'* и *phyA''* не нарушалось. Это указывает на негативное влияние JA на *phyA* под действием FRC (HIR) и вовлечение, таким образом, этого гормона в светоиндуцированный оборот *phyA* в растении [10, 117].

В случае биосинтеза Pchl_{ide} роль JA в регуляторном процессе с участием *phyA* проявляется даже более явно. Общее содержание Pchl_{ide}^{633/628} и Pchl_{ide}^{655/650} было выше в мутанте, что говорит о подавлении этим гормоном синтеза протохлорофиллида в диком типе. Однако наиболее выражено влияние JA на сигнал *phyA* было обнаружено в случае биосинтеза Pchl_{ide}^{655/650}. В проростке дикого типа FRC стимулировал биосинтез пигмента, тогда как FRC той же дозы был ингибирующим (рис. 7). Напротив, в мутантном растении оба типа освещения FRC и FRC активировали биосинтез Pchl_{ide}^{655/650}, т.е. знак эффекта FRC менялся с негативного у растений дикого типа на позитивный у *hebiba*. Принимая во внимание тот факт, что у *Arabidopsis* HIR отнесен к *phyA'*, а VLFR – к *phyA''* [11, 12], мы можем высказать предположение, что воздействие FRC и FRC на накопление Pchl_{ide}⁶⁵⁵ в диком типе риса и его мутанте *hebiba* опосредуются *phyA'* и *phyA''* соответственно. Эти наблюдения согласуются с данными по подавлению *PORA* в проростках, выращиваемых в темноте [118]. Можно также отметить, что блок зеленения светом FR, по крайней мере частично, регулируется JA [118, 119].

В общем, сигналы от JA и фитохрома взаимно антагонистичны [15]. Гены биосинтеза JA индуцируются *phyA*, однако присутствует и негативная обратная связь, в которой сигнал от JA ингибируется сигналом от фитохрома. С другой стороны, JA запускает фосфорилирование *phyA* [119], возможно, по Ser598 [15], что снижает активность *phyA* за счет его взаимодействия с

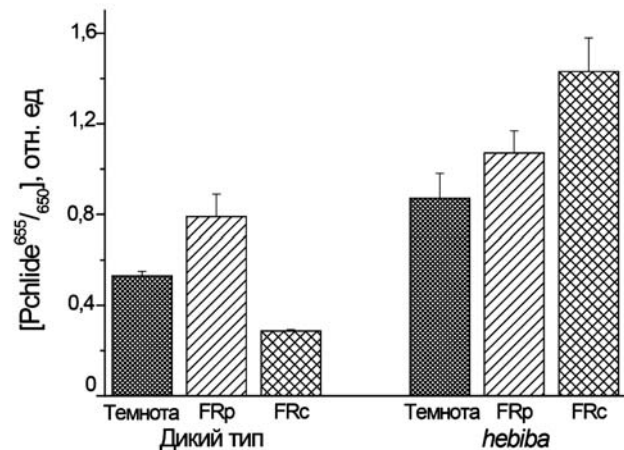


Рис. 7. Содержание активного протохлорофиллида (Pchl_{ide}^{655/650}) в кончиках колеоптилей дикого типа риса и его мутанта *hebiba*, дефицитного по гормону жасмоновой кислоте. Проростки выращивали 5 дней в темноте или под прерывистым (FRp) или постоянным (FRC) дальним красным светом, FR ($\lambda_a \geq 720$ нм) одинаковой дозы. Адаптировано из статьи Sineshchekov et al. [10]

партнерами по цепи трансдукции сигнала [120]. Активность *phyA* может уменьшаться под влиянием JA путем стимуляции его разрушения [10, 117].

В фитохромную регуляцию вовлечены и другие растительные гормоны. Обнаружены сложные регуляторные взаимосвязи между фитохромом, гиббереллинами (*gibberellin*, GA) и абсцизовой кислотой (*abscisic acid*, ABA) [121]. Luccioni et al. [122] наблюдали подавление HIR и VLFR в мутанте *Arabidopsis* (*eve1*) с нарушенным синтезом бразиностероидов (*brassinosteroid*, BR), что свидетельствует о включении бразиностероидов в фитохромный сигнал в качестве позитивных факторов. Становится все более определенным, что ключевые сигнальные компоненты (PIF, HY5 и др.) осуществляют связь между световыми и фитогормональными сигналами в регуляции прорастания семян и фотоморфогенеза проростков [16, 87, 112].

Представленные выше эффекты JA, BR и других гормонов, модифицирующие сигнал *phyA*, могут рассматриваться как еще один способ настройки фитохромной системы и приспособления растений к изменяющимся световым условиям окружающей среды.

Тонкая настройка действия *phyA*. Регуляция баланса *phyA'*/*phyA''*. Регуляция активности *phyA* включает в себя хорошо известный феномен его деструкции и подавления биосинтеза на свету. Адаптация функционирования *phyA* к окружающим световым условиям может быть более сложной, если принять во внимание существование двух нативных типов фоторецептора (*phyA'* и *phyA''*) с различными способами действия [11, 56]. Наши исследования выявили четыре различных эффекта действия света на их содержание и равновесие. Во-первых, опосредованное красным светом разрушение *phyA* преимущественно в его светочувствительной форме *phyA'*. Во-вторых, негативная регуляция биосинтеза *phyA* под действием FR без нарушения равновесия *phyA'*/*phyA''*. В-третьих, в этиолированных проростках (*Arabidopsis*) соотношение *phyA'*/*phyA''* регулируется индуцирующим прорастание семян освещением белым светом, смещая его в сторону светочувствительного *phyA'* [11, 12]. И в-четвертых, предшествующая деструкции *phyA* конверсия *phyA'* в *phyA''*, индуцированная красным предосвещением этиолированных coleoptiles (ячменя) (В. Синещев и Л. Коппель, неопубликованные результаты). Специфичность действия *phyA* в зависимости от органа/ткани растения и/или его стадии развития может также реализовываться путем изменения в содержании двух пулов *phyA* в растении в темновых условиях. В этой связи представляет интерес тот факт, что соотношение *phyA'*/*phyA''* зависит от двух основных регуляторных факторов в клетке – фосфа-

тазно/киназного равновесия в цитоплазме и ее pH [123].

Следует отметить, что по нашим данным [124], фосфорилирование *phyA* в области NTE, предположительно конвертирующее *phyA''* в *phyA'* [11, 12], происходит, по-видимому, как трансфосфорилирование и по иным серинам (серину), чем известный процесс автофосфорилирования фоторецептора по Ser8 и Ser18 у овса, который, согласно Han et al. [55], делает *phyA* более светочувствительным и менее функционально активным. Фосфорилирование *phyA* в области NTE может, таким образом, достигать двух целей – дифференцирования *phyA* на *phyA'* и *phyA''* (активных, соответственно, в HIR и VLFR) и модификации чувствительности *phyA* за счет изменения его светочувствительности.

Эти эффекты по изменению содержания и баланса *phyA'* и *phyA''* могут иметь прямое отношение к регуляции биосинтеза Chl с помощью *phyA*, поскольку VLFR и HIR, опосредованные этими пулами *phyA* (см. выше), вовлечены в этот процесс. В соответствии с Kneissl et al. [66] *phyA* дикого типа риса и его мутант *phyA SA* (с заменой 10 серинов аланинами в NTE), экспрессированные в трансгенном *Arabidopsis*, дефицитном по собственному *phyA*, проявляли свойства эндогенного *phyA Arabidopsis* в отношении эффектов FRc – подавления биосинтеза Chl и гибели проростков (FR block of greening, «far-red light killing effect») (тип фотответа – HIR). Под действием FRp (условия VLFR) мутантный *phyA SA* был менее эффективным, чем *phyA* дикого типа в этих процессах. Поскольку мутантный *phyA SA* риса представлен *phyA''*, а *phyA* дикого типа включает в себя оба типа, *phyA'* и *phyA''* [12], мы можем заключить, что *phyA''* является доминирующим видом фоторецептора, участвующим в этих индуцированных FRc эффектах ингибирования биосинтеза Chl (по типу HIR). Это согласуется с отнесением HIR к *phyA''* и VLFR – к *phyA'* [11, 12]. Наблюдение Kneissl et al. [66], что экспрессия *phyA SA* приводит к гиперчувствительности под действием FRc в реакции ингибирования удлинения гипокоты и к незначительному ответу под действием R, тогда как линии, экспрессирующие *phyA* дикого типа, были гиперчувствительны к воздействию R в этом эффекте, а не к FRc, подтверждает это заключение. В его пользу можно отнести также тот факт, что при освещении FRp (VLFR) ингибирование удлинения гипокоты было сильнее в линиях *Arabidopsis*, экспрессирующих *phyA* риса дикого типа, чем в тех, где экспрессирован мутантный *phyA SA*. Таким образом, накапливаются экспериментальные доказательства, которые подчеркивают необходи-

мость учитывать структурную и функциональную гетерогенность phyA при анализе световой регуляции биогенеза Chl и формирования фотосинтетического аппарата.

Переход от ското- к фотоморфогенетическому способу жизни осуществляется у растений при участии двух основных явлений — фотопревращения Pchl_{ide} в Chl_{ide} и далее в Chl, и активации фотоиндуцибельных генов, кодирующих фотосинтетические белки. В процессе скотоморфогенеза сигнальные системы подавляют экспрессию генов, кодирующих ферменты биосинтеза тетрапирролов, результатом чего является исключение их потенциально опасного избыточного накопления, а также стимулируют экспрессию генов ферментов PORA и PORB, которые связывают фотодеструктивные молекулы свободного Pchl_{ide}. Под освещением сигнальные системы способствуют накоплению (прото)хлорфилл(ида) и связывающих их белков. Это достигается преимущественно за счет действия phyA, который отвечает за регуляцию более чем тысячи генов раннего ответа на освещение, включая гены, регулирующие биосинтез Chl.

Физико-химические механизмы превращения Pchl_{ide} → Chl_{ide} и Pr → Pfr становятся все более понятными, также как компоненты в ходе превращения Pchl_{ide} в Chl и трансдукции сигнала от phyA. В то же время вся сеть фоторецепторов, воспринимающих и передающих внешние сигналы и взаимодействующих с внутренними регуляторными системами (в частности, с гормонами), обнаруживает крайне сложный характер своей организации. Динамика, глубина и тип действия (VLFR, LFR и NIR) и даже знак фотоответов с участием phyA сильно зависят от видовой/органный/тканевой специфики сигнала, а также его связи со стадией развития растения. Другими словами, они сильно зависят от физиологического состояния конкретного исследуемого растения, включая его генетический фон. Специфичность и сложность действия phyA связаны с тем фактом, что он является основным фоторецептором у высших растений, опосредующим сигналы как красного, так и дальнего красного света, что является жизненно важным для выживания растения особенно в условиях глубокого затенения под плотным лесным пологом. Этот фоторецептор обладает также исключительно высокой чувствительностью к восприятию света, что необходимо для индукции прорастания семян и фотоморфогенеза. По ходу развития растения эта экстремальная чувстви-

тельность phyA, которая может становиться вредной для растения из-за избыточной стимуляции де-этиоляции (в частности, повышенного накопления Pchl_{ide}), снижается за счет негативной регуляции биосинтеза phyA, его деструкции и понижения уровня передачи светового сигнала.

Еще большую сложность этой картине придает тот факт, что phyA представлен в растениях двумя его нативным типами — phyA' и phyA". Они различаются по спектральным и фотохимическим свойствам, ассоциации с мембраной (белком), световой стабильности и, что наиболее важно, по способу действия — VLFR в случае phyA' и NIR, а также возможно LFR — в случае phyA". Их общее содержание и пропорция и, таким образом, их активность изменяются в зависимости от вида растения, его органа и ткани, стадии развития, условий освещения и других факторов. Регуляция содержания phyA' и phyA" является еще одной гранью тонкой настройки работы phyA. При этом фосфорилирование phyA играет важную роль как механизм его дифференциации на два нативных вида, phyA' and phyA", а также повышения световой лабильности и ингибирования взаимодействия с партнерами. Все это приложимо и к теме регуляции фитохромом A биосинтеза Chl и развития фотосинтетического аппарата — процесса, всецело зависящего от взаимодействия световой и гормональной сигнальных систем. Обнадеживающим знаком в разрешении этой сложной ситуации является открытие у растений существования центрального регуляторного узла: взаимодействующих с фитохромом белков-партнеров (PIFs), функционально тесно связанных с семейством гормональных и других транскрипционных факторов (EIN3/EIL1 и др.). В дальнейшем это обещает структурирование наших знаний о световых, гормональных и других регуляторных факторах и процессах вокруг таких интеграционных точек.

Благодарности. Авторы благодарны своему учителю — профессору Ф.Ф. Литвину за его постоянный интерес к их исследованиям и поддержку, а также профессорам P. Galland, T. Lamarter и M. Terry за критический анализ работы и ценные советы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей и использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Armstrong, G.A., Apel, K., and Rudiger, W. (2000) Does a light-harvesting protochlorophyllide a/b-binding protein complex exist? *Trends Plant Sci.*, **5**, 40–44, doi: 10.1016/S1360-1385(99)01513-7.
2. Mathews, S. (2010) Evolutionary studies illuminate the structural-functional model of plant phytochromes, *Plant Cell*, **22**, 4–16, doi: 10.1105/tpc.109.072280.
3. Casal, J.J., Candia, A.N., and Sellaro, R. (2013) Light perception and signalling by phytochrome A, *J. Exp. Bot.*, **65**, 2835–2845, doi: 10.1093/jxb/ert379.
4. Van Tuinen, A., Kerckhoffs, L.H.J., Nagatani, A.R., Kendrick, E., and Koornneef, M. (1995) Far-red light-insensitive, phytochrome A-deficient mutants of tomato, *Mol. Gen. Genet.*, **246**, 133–141, doi: 10.1007/BF0029-4675.
5. Barnes, S.A., Nishizawa, N.K., Quaggio, R.B., Whitlam, G.C., and Chua, N.H. (1996) Far-red light blocks greening of *Arabidopsis* seedlings via a phytochrome A-mediated change in plastid development, *Plant Cell*, **8**, 601–615, doi: 10.1105/tpc.8.4.601.
6. McCormac, A.C., and Terry, M.J. (2002) Loss of nuclear gene expression during the phytochrome A-mediated far-red block of greening response, *Plant Physiol.*, **130**, 402–414, doi: 10.1104/pp.003806.
7. Meyer, G., Bliedung, H., and Kloppstech, K. (1983) NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase: reciprocal regulation in mono- and dicotyledonean plants, *Plant Cell Rep.*, **2**, 26–29, doi: 10.1007/BF00269229.
8. Sineshchekov, V., Belyaeva, O., and Sudnitsin, A. (2004) Phytochrome A positively regulates biosynthesis of the active protochlorophyllide in dicots under far-red light, *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, **74**, 47–54, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2004.02.001.
9. Takano, M., Inagaki, N., Xie, X., Yuzurihara, N., Hihara, F., Ishizuka, T., and Shinomura, T. (2005) Distinct and cooperative functions of phytochromes A, B, and C in the control of deetiolation and flowering in rice, *Plant Cell*, **17**, 3311–3325, doi: 10.1105/tpc.105.035899.
10. Sineshchekov, V.A., Loskovich, A.V., Riemann, M., and Nick, P. (2004) The jasmonate-free rice mutant hebiba is affected in the response of phyA'/phyA'' pools and protochlorophyllide biosynthesis to far-red light, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **3**, 1058–1062, doi: 10.1039/B406795A.
11. Sineshchekov, V. (2019) Two molecular species of phytochrome A with distinct modes of action, *Funct. Plant Biol.*, **46**, 118–135, doi: 10.1071/FP18156.
12. Sineshchekov, V.A., Koppel, L.A., and Bolle, C. (2018) Two native types of phytochrome A, phyA' and phyA'', differ by the state of phosphorylation at the N-terminus as revealed by fluorescence investigations of the Ser/Ala mutant of rice phyA expressed in transgenic *Arabidopsis*, *Funct. Plant Biol.*, **45**, 150–159, doi: 10.1071/FP16261.
13. Terry, M.J., and Smith, A.G. (2013) A model for tetrapyrrole synthesis as the primary mechanism for plastid-to-nucleus signaling during chloroplast biogenesis, *Front. Plant Sci.*, **4**, 1–14, doi: 10.3389/fpls.2013.00014.
14. Jarvis, P., and Lopez-Juez, E. (2013) Biogenesis and homeostasis of chloroplasts and other plastids, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **14**, 787–802, doi: 10.1038/nrm3702.
15. Hsieh, H.L., and Okamoto, H. (2014) Molecular interaction of jasmonate and phytochrome A signaling, *J. Exp. Bot.*, **65**, 2847–2857, doi: 10.1093/jxb/eru230.
16. Leivar, P., and Quail, P.H. (2011) PIFs: pivotal components in a cellular signaling hub, *Trends Plant Sci.*, **16**, 19–28, doi: 10.1016/j.tplants.2010.08.003.
17. Brzezowski, P., Richter, A.S., and Grimm, B. (2015) Regulation and function of tetrapyrrole biosynthesis in plants and algae, *Biochim. Biophys. Acta*, **1847**, 968–985, doi: 10.1016/j.bbabi.2015.05.007.
18. Kobayashi, K., and Masuda, T. (2016) Transcriptional regulation of tetrapyrrole biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*, *Front. Plant Sci.*, **7**, 1811–1828, doi: 10.3389/fpls.2016.01811.
19. Kreslavski, V.D., Los, D.A., Schmitt, F.J., Zharmukhamedov, S.K., Kuznetsov, V.V., and Allakhverdiev, S.I. (2018) The impact of the phytochromes on photosynthetic processes, *Biochim. Biophys. Acta*, **1859**, 400–408, doi: 10.1016/j.bbabi.2018.03.003.
20. Mochizuki, N., Tanaka, R., Grimm, B., Masuda, T., Moulin, M., Smith, A.G., Tanaka, A., and Terry, M.J. (2010) The cell biology of tetrapyrroles: a life and death struggle, *Trends Plant Sci.*, **15**, 488–498, doi: 10.1016/j.tplants.2010.05.012.
21. Литвин Ф.Ф., Стадничук И.Н. (1980) Длинноволновые предшественники хлорофилла в этиолированных листьях и система нативных форм протохлорофилла, *Физиол. растений*, **27**, 1024–1031.
22. Boddi, B., Ryberg, M., and Sundqvist, C. (1992) Identification of four universal protochlorophyllide forms in dark-grown leaves by analyses of the 77 K fluorescence emission spectra, *J. Photochem. Photobiol.*, **12**, 389–401, doi: 10.1016/1011-1344(92)85043-T.
23. Stadnichuk, I.N., Amirjani, M.R., and Sundqvist, C. (2005) Identification of spectral forms of protochlorophyllide in the region 670–730 nm, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **4**, 230–238, doi: 10.1039/B403170A.
24. Вальгер Г., Беляева О.Б., Игнатов Н.В., Красновский А.А., Литвин Ф.Ф. (1982) Способность к фотопревращению различных форм протохлорофилла (ида) в *Phaseolus coccineus*, *Биологический науки*, **9**, 35–39.
25. Franck, F., and Strzalka, K. (1992) Detection of the photoactive protochlorophyllide-protein complex in the light during the greening of barley, *FEBS Lett.*, **309**, 73–77, doi: 10.1016/0014-5793(92)80742-Y.
26. Seyyedi, M., Timko, M.P., and Sundqvist, C. (1999) Protochlorophyllide, NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase, and chlorophyll formation in the lip1 mutant of pea, *Plant Cell Physiol.*, **106**, 344–354, doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.106313.x.
27. Amirjani, M.R., Sundqvist, K., and Sundqvist, C. (2006) Protochlorophyllide and POR development in dark-grown plants with different proportions of short-wavelength and long-wavelength protochlorophyllide spectral forms, *Physiol. Plant*, **128**, 751–762, doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00789.x.
28. Sundqvist, C., and Dahlin, C. (1997) With chlorophyll pigments from prolamellar bodies to light-harvesting complexes, *Physiol. Plant.*, **100**, 748–759, doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb00002.x.
29. Schoefs, B., and Franck F. (2008) The photoenzymatic cycle of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase in primary bean leaves (*Phaseolus vulgaris*) during the first days of photoperiodic growth, *Photosynth. Res.*, **96**, 15–26, doi: 10.1007/s11120-007-9274-x.
30. Sundqvist, C., Ryberg, H., Boddi, B., and Lang, F. (1980) Spectral properties of a long-wavelength absorbing form of protochlorophyll in seeds of *Cyclanthera explodens*, *Physiol. Plant*, **48**, 297–301, doi: 10.1111/j.1399-3054.1980.tb03258.x.
31. Ignatov, N.V., and Litvin, F.F. (1996) Photoconversion of longer-wavelength protochlorophyll native form Pchl 682/672 into chlorophyll Chl715/696 in *Chlorella vulgaris* B-15, *Photosynthesis Res.*, **50**, 271–283, doi: 10.1007/BF00033125.

32. Ignatov, N.V., and Litvin, F.F. (2002) A new pathway of chlorophyll biosynthesis from long-wavelength protochlorophyllide Pchl_{id} 686/676 in juvenile etiolated plants, *Photosynth. Res.*, **71**, 195–207, doi: 10.1023/A:1015595426181.
33. Беляева О.Б. (2009) Светозависимый биосинтез хлорофилла, БИНОМ, Лаборатория знаний, Москва.
34. Artus, N.N., Ryberg, M., Lindsten, A., Ryberg, H., and Sundqvist, C. (1992) The Sibata shift and the transformation of etioplasts to chloroplasts in wheat with clomazone (FMC 57020) and amiprofos-methyl (Tokunol M), *Plant Physiol.*, **98**, 253–263, doi: 10.1104/pp.98.1.253.
35. Kowalewska, L., Mazur, R., Suski, S., Garstka, M., and Mostowska, A. (2016) Three-dimensional visualization of the tubular–lamellar transformation of the internal plastid membrane network during runner bean chloroplast biogenesis, *Plant Cell*, **28**, 875–891, doi: 10.1105/tpc.15.01053.
36. Беляева О.Б., Карнеева Н.В., Стадничук И.Н., Литвин Ф.Ф. (1975) Динамика биосинтеза нативных форм хлорофилла от начальных стадий до завершения процесса зеленения этиолированных листьев, *Биохимия*, **40**, 951–961.
37. Litvin, F.F., and Sineshchekov, V.A. (1975) In *Energetics of Photosynthesis* (Govindjee ed.), Academic Press, New York, San Francisco, London, pp. 619–661.
38. Литвин Ф.Ф., Синещеков В.А. и Шубин В.В. (1976) Исследование миграции энергии между нативными формами хлорофилла при –196 °С методом сенсифлюоресценции, *Биофизика*, **21**, 669–675.
39. Griffiths, W.T. (1978) Reconstitution of chlorophyllide formation by isolated etioplast membranes, *Biochem. J.*, **174**, 681–692, doi: 10.1042/bj1740681.
40. Wilks, H.M., and Timko, M.P. (1995) A light-dependent complementation system for analysis of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase: identification and mutagenesis of two conserved residues that are essential for enzyme activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 724–728, doi: 10.1073/pnas.92.3.724.
41. Meskauskiene, R., Nater, M., Goslings, D., Kessler, F., op den Camp, R., and Apel, K. (2001) FLU: a negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 12826–12831, doi: 10.1073/pnas.221252798.
42. McCormac, A.C., and Terry, M.J. (2004) The nuclear genes Lhcb and HEMA1 are differentially sensitive to plastid signals and suggest distinct roles for the GUN1 and GUN5 plastid-signalling pathways during de-etiolation, *Plant J.*, **40**, 672–685, doi: 10.1111/j.1365-313X.2004.02243.x.
43. Martin, G., Leivar, P., Ludevid, D., Tepperman, J.M., Quail, P.H., and Monte, E. (2016) Phytochrome and retrograde signalling pathways converge to antagonistically regulate a light-induced transcriptional network, *Nat. Commun.*, **7**, 11431, doi: 10.1038/ncomms11431.
44. Beck, C.F. (2005) Signaling pathways from the chloroplast to the nucleus, *Planta*, **222**, 741–756, doi: 10.1007/s00425-005-0021-2.
45. Krasnovsky, A.A. (1994) Singlet molecular oxygen and primary mechanisms of photo-oxidative damage of chloroplasts. Studies based on detection of oxygen and pigment phosphorescence, *Proc. Roy. Soc. Edinb. B Biol.*, **102**, 219–235, doi: 10.1017/S0269727000014147.
46. Reinbothe, S., Reinbothe, C., Apel, K., and Lebedev, N. (1996) Evolution of chlorophyll biosynthesis – the challenge to survive photooxidation, *Cell*, **86**, 703–705, doi: 10.1016/S0092-8674(00)80144-0.
47. Matsumoto, F., Obayashi, T., Sasaki-Sekimoto, Y., Ohta, H., Takamiya, K., and Masuda, T. (2004) Gene expression profiling of the tetrapyrrole metabolic pathway in *Arabidopsis* with a mini-array system, *Plant Physiol.*, **135**, 2379–2391, doi: 10.1104/pp.104.042408.
48. Huq, E., Al-Sady, B., Hudson, M., Kim, C., Apel, K., and Quail, P.H. (2004) Phytochrome-interacting factor 1 is a critical bHLH regulator of chlorophyll biosynthesis, *Science*, **305**, 1937–1941, doi: 10.1126/science.1099728.
49. Zhu, X., Chen, J., Xie, Z., Gao, J., Ren, G., Gao, S., Zhou, X., and Kuai, B. (2015) Jasmonic acid promotes degreening via MYC 2/3/4-and ANAC 019/055/072-mediated regulation of major chlorophyll catabolic genes, *Plant J.*, **84**, 597–610, doi: 10.1111/tj.13030.
50. Gendron, J.M., Pruneda-Paz, J.L., Doherty, C.J., Gross, A.M., Kang, S.E., and Kay, S.A. (2012) *Arabidopsis* circadian clock protein, TOC1, is a DNA-binding transcription factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 3167–3172, doi: 10.1073/pnas.1200355109.
51. Cheminant, S., Wild, M., Bouvier, F., Pelletier, S., Renou, J.P., Erhardt, M., Hayes, S., Terry, M.J., Genschik, P., and Achard, P. (2011) DELLAs regulate chlorophyll and carotenoid biosynthesis to prevent photooxidative damage during seedling deetiolation in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **23**, 1849–1860, doi: 10.1105/tpc.111.085233.
52. Xu, X., Paik, I., Zhu, L., and Huq, E. (2015) Illuminating progress in phytochrome-mediated light signaling pathways, *Trends Plant Sci.*, **20**, 641–650, doi: 10.1016/j.tplants.2015.06.010.
53. Rockwell, N.C., Su, Y.S., and Lagarias, J.C. (2006) Phytochrome structure and signaling mechanisms, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 837–858, doi: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144208.
54. Cherry, J.R., Hondred, D., Walker, J.M., and Vierstra, R.D. (1992) Phytochrome requires the 6-kDa N-terminal domain for full biological activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 5039–5043, doi: 10.1073/pnas.89.11.5039.
55. Han, Y.J., Kim, H.S., Kim, Y.M., Shin, A.Y., Lee, S.S., Bhoo, S.H., Song, P.S., and Kim, J.I. (2010) Functional characterization of phytochrome autophosphorylation in plant light signaling, *Plant Cell Physiol.*, **51**, 596–609, doi: 10.1093/pcp/pcq025.
56. Sineshchekov, V.A. (2010) Fluorescence and photochemical investigations of phytochrome in higher plants, *J. Botany*, 1–15, doi: 10.1155/2010/358372.
57. Sineshchekov, V.A. (1995) Photobiophysics and photobiology of the heterogeneous phytochrome system, *Biochim. Biophys. Acta*, **1228**, 125–164, doi: 10.1016/0005-2728(94)00173-3.
58. Gartner, W., and Braslavsky, S.E. (2004) In *Photoreceptors and light signaling (Comprehensive series in photochemical and photobiological sciences)*, Vol. 3 (Batschauer, A. ed.), RSC Publishing, pp. 136–180.
59. Helizon, H., Rosler-Dalton, J., Gasch, P., von Horsten, S., Essen, L.-O., and Zeidler, M. (2018) *Arabidopsis* phytochrome A nuclear translocation is mediated by a far red elongated hypocotyl 1 – importin complex, *Plant J.*, **96**, 1255–1268, doi: 10.1111/tj.14107.
60. Sheerin, D.J., Menon, C., zur Oven-Krockhaus, S., Enderle, B., Zhu, L., Johnen, P., Schleifenbaum, F., Stierhof, Y.D., Huq, E., and Hiltbrunner, A. (2015) Light-activated phytochrome A and B interact with members of the SPA family to promote photomorphogenesis in *Arabidopsis* by reorganizing the COP1/SPA complex, *Plant Cell*, **27**, 189–201, doi: 10.1105/tpc.114.134775.
61. Yang, S.W., Jang, I.C., Henriques, R., and Chua, N.H. (2009) Far-red elongated hypocotyl1 and FHY1-like associate with the *Arabidopsis* transcription factors LAF1 and HFR1 to transmit phytochrome A signals for inhibition of hypocotyl elongation, *Plant Cell*, **21**, 1341–1359, doi: 10.1105/tpc.109.067215.

62. Chen, F., Shi, X., Chen, L., Dai, M., Zhou, Z., Shen, Y., Li, J., Li, G., Wei, N., and Deng, X.W. (2012) Phosphorylation of far-red elongated hypocotyl1 is a key mechanism defining signaling dynamics of phytochrome A under red and far-red light in *Arabidopsis*, *The Plant Cell*, **24**, 1907–1920, doi: 10.1105/tpc.112.097733.
63. Castillon, A., Shen, H., and Huq, E. (2007) Phytochrome interacting factors: central players in phytochrome-mediated light signaling networks, *Trends Plants Sci.*, **12**, 514–521, doi: 10.1016/j.tplants.2007.10.001.
64. Fairchild, C.D., Schumaker, M.A., and Quail, P.H. (2000) HFR1 encodes an atypical bHLH protein that acts in phytochrome A signal transduction, *Genes Dev.*, **14**, 2377–2391, doi: 10.1101/gad.828000.
65. Rausenberger, J., Tscheuschler, A., Nordmeier, W., Wust, F., Timmer, J., Schafer, E., Fleck, C., and Hiltbrunner, A. (2011) Photoconversion and nuclear trafficking cycles determine phytochrome A's response profile to far-red light, *Cell*, **146**, 813–825, doi: 10.1016/j.cell.2011.07.023.
66. Kneissl, J., Shinomura, T., Furuya, M., and Bolle, C. (2008) A rice phytochrome A in *Arabidopsis*: the role of the N-terminus under red and far-red light, *Mol. Plant*, **1**, 84–102, doi: 10.1093/mp/ssp010.
67. Casal, J.J., Davis, S.J., Kirchenbauer, D., Viczian, A., Yanovsky, M.J., Clough, R.C., Kircher, S., Jordan-Beebe, E.T., Schafer, E., Nagy, F., and Vierstra, R.D. (2002) The serine-rich N-terminal domain of oat phytochrome a helps regulate light responses and subnuclear localization of the photoreceptor, *Plant Physiol.*, **129**, 1127–1137, doi: 10.1104/pp.010977.
68. Trupkin, A., Debrieux, D., Hiltbrunner, A., Fankhauser, C., and Casal, J.J. (2007) The serine-rich N-terminal region of *Arabidopsis* phytochrome A is required for protein stability, *Plant Mol. Biol.*, **63**, 669–678, doi: 10.1007/s11103-006-9115-x.
69. Yanovsky, M.J., Whitelam, G.C., and Casal, J.J. (2000) Fhy3-1 retains inductive responses of phytochrome A, *Plant Physiol.*, **123**, 235–242, doi: 10.1104/pp.123.1.235.
70. Beale, S.I. (1990) Biosynthesis of the tetrapyrrole pigment precursor, *д-aminolevulinic acid*, from glutamate, *Plant Physiol.*, **93**, 1273–1279, doi: 10.1104/pp.93.4.1273.
71. Ilag, L.L., Kumar, A.M., and Soll, D. (1994) Light regulation of chlorophyll biosynthesis at the level of 5-aminolevulinic acid formation in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **6**, 265–275, doi: 10.1105/tpc.6.2.265.
72. Masoner, M., Unser, G., and Mohr, H. (1972) Accumulation of protochlorophyll and chlorophyll a as controlled by photomorphogenically effective light, *Planta*, **105**, 267–272, doi: 10.1007/BF00385398.
73. McCormac, A.C., Fischer, A., Kumar, A.M., Soll, D., and Terry, M.J. (2001) Regulation of HEMA1 expression by phytochrome and a plastid signal during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana*, *Plant J.*, **25**, 549–561, doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.00986.x.
74. McCormac, A.C., and Terry, M.J. (2002) Light-signalling pathways leading to the coordinated expression of HEMA1 and Lhcb during chloroplast development in *Arabidopsis thaliana*, *Plant J.*, **32**, 549–559, doi: 10.1046/j.1365-313x.2002.01443.x.
75. Tang, W., Wang, W., Chen, D., Ji, Q., Jing, Y., Wang, H., and Lin, R. (2012) Transposase-derived proteins FHY3/FAR1 interact with phytochrome-interacting factor 1 to regulate chlorophyll biosynthesis by modulating HEMB1 during de-etiolation in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, **24**, 1984–2000, doi: 10.1105/tpc.112.097022.
76. Forreiter, C., van Cleve, B., Schmidt, A., and Apel, K. (1991) Evidence for a general light-dependent negative control of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase in angiosperms, *Planta*, **183**, 126–132, doi: 10.1007/BF00197576.
77. Armstrong, G.A., Runge, S., Frick, G., Sperling, U., and Apel, K. (1995) Identification of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductases A and B: a branched pathway for light-dependent chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiol.*, **108**, 1505–1517, doi: 10.1104/pp.108.4.1505.
78. Oosawa, N., Masuda, T., Awai, K., Fusada, N., Shimada, H., Ohta, H., and Takamiya, K. (2000) Identification and light-induced expression of a novel gene of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase isoform in *Arabidopsis thaliana*, *FEBS Lett.*, **474**, 133–136, doi: 10.1016/S0014-5793(00)01568-4.
79. Su, Q., Frick, G., Armstrong, G., and Apel, K. (2001) POR C of *Arabidopsis thaliana*: a third light- and NADPH-dependent protochlorophyllide oxidoreductase that is differentially regulated by light, *Plant Mol. Biol.*, **47**, 805–813, doi: 10.1023/A:1013699721301.
80. Kasemir, H. (1979) Control of chloroplast formation by light, *Cell Biol. Int. Rep.*, **3**, 197–214, doi: 10.1016/0309-1651(79)90033-X.
81. Kasemir, H., and Prehm, G. (1976) Control of chlorophyll synthesis by phytochrome: III. Does phytochrome regulate the chlorophyllide esterification in mustard seedlings? *Planta*, **132**, 291–295, doi: 10.1007/BF00399729.
82. Jabben, M., and Mohr, H. (1975) Stimulation of the Shibata shift by photochrome in the cotyledons of the mustard seedling *Sinapis alba* L., *Photochem. Photobiol.*, **22**, 55–58, doi: 10.1111/j.1751-1097.1975.tb06721.x.
83. Masoner, M., and Kasemir, H. (1975) Control of chlorophyll synthesis by phytochrome, *Planta*, **126**, 111–117, doi: 10.1007/BF00380614.
84. Rajasekhar, V.K., Guha-Mukherjee, S., and Sopory, S.K. (1983) Time dependence of phytochrome-mediated carotenoid and chlorophyll synthesis in *Sorghum bicolor* L., *Ann. Bot. (London)*, **52**, 159–163, doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a086561.
85. Wu, Z., Zhang, X., He, B., Diao, L., Sheng, S., Wang, J., Guo, X., Su, N., Wang, L., Jiang, L., Wang, C., Zhai, H., and Wan, J. (2007) A chlorophyll-deficient rice mutant with impaired chlorophyllide esterification in chlorophyll biosynthesis, *Plant Physiol.*, **145**, 29–40, doi: 10.1104/pp.107.100321.
86. Chory, J. (1993) Out of darkness: mutants reveal pathways controlling light-regulated development in plants, *Trends Genet.*, **9**, 167–172, doi: 10.1016/0168-9525(93)90163-C.
87. Lau, O.S., and Deng, X.W. (2010) Plant hormone signaling lightens up: integrators of light and hormones, *Curr. Opin. Plant Biol.*, **13**, 571–577, doi: 10.1016/j.pbi.2010.07.001.
88. Sperling, U., Cleve, B., Frick, G., Apel, K., and Armstrong, G.A. (1997) Overexpression of light-dependent PORA or PORB in plants depleted of endogenous POR by farred light enhances seedling survival in white light and protects against photooxidative damage, *Plant J.*, **12**, 649–658, doi: 10.1046/j.1365-313x.1997.00649.x.
89. Frances, S., White, M.J., Edgerton, M.D., Jones, A.M., Elliott, R.C., and Thompson, W.F. (1992) Initial characterization of a pea mutant with light-independent photomorphogenesis, *Plant Cell*, **4**, 1519–1530, doi: 10.1105/tpc.4.12.1519.
90. Weller, J.L., Murfet I.C., and Reid, J.B. (1997) Pea mutants with reduced sensitivity to far-red light define an important role for phytochrome A in day-length detection, *Plant Physiol.*, **114**, 1225–1236, doi: 10.1104/pp.114.4.1225.
91. Martin, G.E.M., Timko, M.P., and Wilks, H.M. (1997) Purification and kinetic analysis of pea (*Pisum sativum* L.) NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase expressed as a fusion with maltose-binding protein in *Escherichia coli*, *Biochem. J.*, **325**, 139–145, doi: 10.1042/bj3250139.

92. Sineshchekov, V.A., Frances, S., and White, M.J. (1995) Fluorescence and photochemical characterization of phytochrome in de-etiolated pea mutant lip, *J. Photochem. Photobiol. B*, **28**, 47–51, doi: 10.1016/1011-1344(94)07093-4.
93. Oh, E., Yamaguchi, S., Kamiya, Y., Bae, G., Chung W.-I., and Choi, G. (2006) Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellin in *Arabidopsis*, *Plant J.*, **47**, 124–139, doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02773.x.
94. Toledo-Ortiz, G., Huq, E., and Rodriguez-Concepcion, M. (2010) Direct regulation of phytoene synthase gene expression and carotenoid biosynthesis by phytochrome-interacting factors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 11626–11631, doi: 10.1073/pnas.0914428107.
95. DuBell, A.N., and Mullet, J.E. (1995) Differential transcription of pea chloroplast genes during light-induced leaf development (continuous far-red light activates chloroplast transcription), *Plant Physiol.*, **109**, 105–112, doi: 10.1104/pp.109.1.105.
96. Антипова Т.В., Гапеева Т.А. Волотовский И.Д. (2004) Фоторегуляция накопления протохлорофиллидоксидоредуктазы и большой субъединицы РБФК/О в клетках трансгенного табака, дефицитного по фитохрому А, *Физиология растений*, **51**, 170–174.
97. Parks, B.M., and Quail, P.H. (1993) hy8, a new class of *Arabidopsis* long hypocotyl mutants deficient in functional phytochrome A, *Plant Cell*, **5**, 39–48, doi: 10.1105/tpc.5.1.39.
98. Runge, S., Sperling, U., Frick, G., Apel, K., and Armstrong, G.A. (1996) Distinct roles for light-dependent NADPH: protochlorophyllide oxidoreductases (POR) A and B during greening in higher plants, *Plant J.*, **9**, 513–523, doi: 10.1046/j.1365-313X.1996.09040513.x.
99. Frick, G., Apel, K., and Armstrong, G.A. (1995) in *Photosynthesis: from light to biosphere*, Vol. 3 (Mathis, P. ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 893–898.
100. Lebedev, N., van Cleve, B., Armstrong, G., and Apel, K. (1995) Chlorophyll synthesis in a deetiolated (det340) mutant of *Arabidopsis* without NADPH-Protochlorophyllide (PChlide) Oxidoreductase (POR) A and photoactive PChlide-F655, *Plant Cell*, **7**, 2081–2090, doi: 10.1105/tpc.7.12.2081.
101. Sperling, U., Franck, F., van Cleve, B., Frick, G., Apel, K., and Armstrong, G.A. (1998) Etioplast differentiation in *Arabidopsis*: both PORA and PORB restore the prolamellar body and photoactive protochlorophyllide-F655 to the cop1 photomorphogenic mutant, *Plant Cell*, **10**, 283–296, doi: 10.1105/tpc.10.2.283.
102. Page, M.T., McCormac, A.C., Smith, A.G., and Terry, M.J. (2017) Singlet oxygen initiates a plastid signal controlling photosynthetic gene expression, *New Phytol.*, **213**, 1168–1180, doi: 10.1111/nph.14223.
103. Litvin, F.F., and Belyaeva, O.B. (1971) Sequence of photochemical and dark reactions in the terminal stage of chlorophyll biosynthesis, *Photosynthetica*, **5**, 200–209.
104. Schulz, R., and Senger, H. (1993) In *Pigment-protein complexes in plastids: synthesis and assembly* (Sundqvist, C., and Ryberg, M. eds), Academic Press, Inc., San Diego, California, pp. 179–218.
105. Kittsteiner, U., Paulsen, H., Schendel, R., and Rudiger, W. (1990) Lack of light regulation of NADPH: protochlorophyllide oxido-reductase mRNA in cress seedlings (*Lepidium sativum* L.), *Zeitschrift für Naturforschung C*, **45**, 1077–1079, doi: 10.1515/znc-1990-9-1024.
106. Spano, A.J., He, Z., Michel, H., Hunt, D.F., and Timko, M.P. (1992) Molecular cloning, nuclear gene structure, and developmental expression of NADPH: protochlorophyllide oxidoreductase in pea (*Pisum sativum* L.), *Plant Mol. Biol.*, **18**, 967–972, doi: 10.1007/BF00019210.
107. He, Z.H., Li, J., Sundqvist, C., and Timko, M.P. (1994) Leaf developmental age controls expression of genes encoding enzymes of chlorophyll and heme biosynthesis in pea (*Pisum sativum* L.), *Plant Physiol.*, **106**, 537–546, doi: 10.1104/pp.106.2.537.
108. Sineshchekov, V.A., Loskovich, A., Inagaki, N., and Takano, M. (2006) Two native pools of phytochrome a in monocots: evidence from fluorescence investigations of phytochrome mutants of rice, *Photochem. Photobiol.*, **82**, 1116–1122, doi: 10.1562/2005-12-10-RA-749.
109. Schendel, R., Dornemann, D., Rudiger, W., and Sineshchekov, V. (1996) Comparative investigations of the effect of 5-aminolevulinic acid feeding on phytochrome and protochlorophyll (ide) content in dark-grown seedlings of barley, cucumber and cress, *J. Photochem. Photobiol. B*, **36**, 245–253, doi: 10.1016/S1011-1344(96)07390-3.
110. Canton, F.R., and Quail, P.H. (1999) Both phyA and phyB mediate light-imposed repression of PHYA gene expression in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, **121**, 1207–1215, doi: 10.1104/pp.121.4.1207.
111. Takano, M., Kanegae, H., Shinomura, T., Miyao, A., Hirochika, H., and Furuya, M. (2001) Isolation and characterization of rice phytochrome A mutants, *Plant Cell*, **13**, 521–534, doi: 10.1105/tpc.13.3.521.
112. Lucas, M., and Prat, S. (2014) PIFs get BRright: phytochrome interacting factors as integrators of light and hormonal signals, *New Phytol.*, **202**, 1126–1141, doi: 10.1111/nph.12725.
113. Jeong, J., Kim, K., Kim, M.E., Kim, H.G., Heo, G.S., Park, O.K., Park, Y.I., Choi, G., and Oh, E. (2016) Phytochrome and ethylene signaling integration in *Arabidopsis* occurs via the transcriptional regulation of genes co-targeted by PIFs and EIN3, *Front. Plant Sci.*, **7**, 1055, 1–14, doi: 10.3389/fpls.2016.01055.
114. Roy, A., Sahoo, D., and Tripathy, B.C. (2013) Involvement of phytochrome A in suppression of photomorphogenesis in rice seedling grown in red light, *Plant Cell Environ.*, **36**, 2120–2134, doi: 10.1111/pce.12099.
115. Zhong, S., Zhao, M., Shi, T., Shi, H., An, F., Zhao, Q., and Guo, H. (2009) EIN3/EIL1 cooperate with PIF1 to prevent photo-oxidation and to promote greening of *Arabidopsis* seedlings, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 21431–21436, doi: 10.1073/pnas.0907670106.
116. Riemann, M., Muller, A., Korte, A., Furuya, M., Weiler, E.W., and Nick, P. (2003) Impaired induction of the jasmonate pathway in the rice mutant *hebiba*, *Plant Physiol.*, **133**, 1820–1830, doi: 10.1104/pp.103.027490.
117. Riemann, M., Bouyer, D., Hisada, A., Muller, A., Yatou, O., Weiler, E. W., Takano, M., Furuya, M., and Nick, P. (2009) Phytochrome A requires jasmonate for photodestruction, *Planta*, **229**, 1035–1045, doi: 10.1007/s00425-009-0891-9.
118. Robson, F., Okamoto, H., Patrick, E., Harris, S.R., Wasternack, C., Brearley, C., and Turner, J.G. (2010) Jasmonate and phytochrome A signaling in *Arabidopsis* wound and shade responses are integrated through JAZ1 stability, *Plant Cell*, **22**, 1143–1160, doi: 10.1105/tpc.109.067728.
119. Ritsema, T., van Zanten, M., Leon-Reyes, A., Voeseenek, L.A., Millenaar, F.F., Pieterse, C.M., and Peeters, A.J. (2010) Kinome profiling reveals an interaction between jasmonate, salicylate and light control of hyponastic petiole growth in *Arabidopsis thaliana*, *PLoS One*, **5**, e14255, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014255>.
120. Kim, J.I., Shen, Y., Han, Y.J., Park, J.E., Kirichenbauer, D., Soh, M.S., Nagy, F., Schafer, E., and Song, P.S. (2004) Phytochrome phosphorylation modulates light signaling by influencing the protein–protein interaction, *Plant Cell*, **16**, 2629–2640, doi: 10.1105/tpc.104.023879.
121. Seo, M., Nambara, E., Choi, G., and Yamaguchi, S. (2009) Interaction of light and hormone signals in germi-

- nating seeds, *Plant Mol. Biol.*, **69**, 463, doi: 10.1007/s11103-008-9429-y.
122. Luccioni, L.G., Oliverio, K.A., Yanovsky, M.J., Boccalandro, H.E., and Casal, J.J. (2002) Brassinosteroid mutants uncover fine tuning of phytochrome signaling, *Plant Physiol.*, **128**, 173–181, doi: 10.1104/pp.010668.
123. Sineshchekov, V., Koppel, L., Shor, E., Kochetova, G., Galland, P., and Zeidler, M. (2013) Protein phosphatase activity and acidic/alkaline balance as factors regulating the state of phytochrome A and its two native pools in the plant cell, *Photochem. Photobiol.*, **89**, 83–96, doi: 10.1111/j.1751-1097.2012.01226.x.
124. Sineshchekov, V., Koppel, L., and Kim, J.-I. (2019) The dephosphorylated S8A and S18A mutants of (oat) phytochrome A comprise its two species, phyA' and phyA'', suggesting that autophosphorylation at these sites is not involved in the phyA differentiation, *Photochem. Photobiol. Sci.*, doi: 10.1039/C8PP00574E.

REGULATION OF THE CHLOROPHYLL BIOGENESIS BY PHYTOCHROME A

V. A. Sineshchekov* and O. B. Belyaeva*

*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119234 Moscow, Russia;
E-mail: vsineshchekov@gmail.com; belyaeva0104@gmail.com*

Received December 6, 2018

Revised January 29, 2019

Accepted January 29, 2019

Dedicated to Professor F. F. Litvin in connection with his 90th birthday

The photosynthetic apparatus accomplishes two major functions in plants – solar energy conversion and plant protection from photodestruction. Its formation includes coordinated biosynthesis of chlorophyll (Chl) and matrix proteins binding Chl. Light plays here the central role driving both metabolic and regulatory processes. The regulation is achieved via operation of the sophisticated photoreceptor machinery with the phytochrome system as its main component. The review concentrates on Chl biosynthesis and the regulation of this process by phytochrome A (phyA). The main dark and light stages of the biosynthesis of Chl native forms are considered. The mechanism of phyA action with emphasis on the existence of its two native types with different modes of action is described. The specificity of the regulatory effect of phyA on biosynthesis of chlorophyll precursor, protochlorophyllide, depending on plant tissue/organ, plant species, genetic modifications and hormonal status is discussed.

Keywords: biosynthesis, chlorophyll(ide), protochlorophyll(ide), regulation, photomorphogenesis, phytochrome A, phytohormones