

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ФИЦ Биотехнологии РАН)**

На правах рукописи



Степанова Наталия Вячеславовна

**Влияние зеленого света на эффективность фотозависимых
процессов в формирующихся семенах гороха (*Pisum sativum* L.)**

1.5.21. Физиология и биохимия растений

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Смоликова Галина Николаевна

Москва
2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	13
1.1. Роль зеленого света в процессах роста и развития растений	13
1.1.1. Фотосинтетическая активная радиация и фитоценозы.....	13
1.1.2. Физиологические процессы растений, контролируемые зеленым светом .	20
1.1.3. Механизмы рецепции света растениями	24
1.2. Световые реакции фотосинтеза у высших растений: адаптивная стратегия и вклад в продуктивность	34
1.2.1. Оксигенный фотосинтез в листьях высших растений	34
1.2.2. «Нелистовой» фотосинтез в зеленых тканях растений.....	37
1.3. Фотохимические процессы в формирующихся семенах растений.....	41
1.3.1. Содержание фотосинтетических пигментов и превращение пластид	42
1.3.2. «Эмбриональный» фотосинтез и связанные с ним процессы синтеза запасных питательных веществ	50
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	58
2.1. Объекты исследования и условия выращивания растений	58
2.2. Оценка спектрального состава света и светопропускания растительных тканей	59
2.3. Определение посевных качеств семян гороха	59
2.4. Спектрофотометрический метод оценки содержания хлорофиллов и каротиноидов	60
2.5. Оценка фотохимической активности тканей методом РАМ-флуориметрии	60
2.5.1. Медленная кинетика флуоресценции хлорофиллов.....	60
2.5.2. Быстрая кинетика флуоресценции хлорофиллов (OJIP тест).....	61
2.6. Биохимический анализ зародышей зрелых семян гороха.....	62
2.6.1. Определение содержания белка по методу Кьельдаля	63
2.6.2. Определение содержания крахмала по методу Эверса.....	63
2.6.3. Определение общего содержания масел	64
2.7. Метаболомный анализ	64

2.7.1. Анализ первичных термостабильных метаболитов методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией (ГХ-МС).....	65
2.7.2. Анализ первичных термолабильных метаболитов методом обращённо-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ОФ-УВЭЖХ-МС).....	66
2.8. Оценка относительного уровня транскрипции генов.....	68
2.8.1. Выделение РНК.....	68
2.8.2. Обратная транскрипция.....	69
2.8.3. Количественная ПЦР в режиме реального времени	69
2.9. Статистическая обработка данных и программное обеспечение	70
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	72
3.1. Влияние светопроницаемости покровных тканей на фотохимическую активность формирующихся плодов гороха	72
3.1.1. Динамика светопроницаемости покровных тканей	72
3.1.2. Динамика фотохимической активности перикарпия, кожуры и семядолей	76
3.2. Влияние зеленого света на фотосинтетическую активность формирующихся плодов гороха	79
3.2.1. Содержание хлорофиллов и каротиноидов.....	81
3.2.2. Оценка фотохимической активности методом РАМ-флуориметрии.....	83
3.2.3. Уровни транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско	90
3.3. Физиологическая и биохимическая оценка качества семян гороха, сформировавшихся при разных условиях освещения	95
3.3.1. Посевные и пищевые качества семян	96
3.3.2. Метаболомный анализ зародышей зрелых семян гороха с использованием методов ГХ-МС и ОФ-УВЭЖХ-МС	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	105
ВЫВОДЫ	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	112
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	144

Список сокращений

АБК – абсцизовая кислота

АМФ – аденозинмонофосфат

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активные формы кислорода

Ацетил-СоА – ацетил-коэнзим А

ГХ-МС – газовая хроматография, сопряженная с масс-спектрометрией

ДКС – дальний красный свет

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДЭГ – дифференциально экспрессирующийся ген

Кар – каротиноиды

кДНК – комплементарная ДНК

КЗС – красный, зеленый и синий свет

КС – красный свет

МГК – метод главных компонент

НАДФ⁺ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат (окисленная форма)

НАДФН – никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восстановленная форма)

ОФ-УВЭЖХ-МС – обращённо-фазовая ультравысокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

Рубиско – рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза/оксигеназа

РЦ – реакционный центр

СР – солнечная радиация

СС – синий свет

ССК – светособирающий комплекс

ФАД – флавинадениндинуклеотид

ФАР – фотосинтетически активная радиация

ФЕП – фосфоенолпируват

ФЕПК – фосфоенолпируваткарбоксилаза

ФС I – фотосистема I

ФС II – фотосистема II

Хл – хлорофиллы

ЭТЦ – электрон-транспортная цепь

Срп60 α – α -субъединица хлоропластного шаперонина Срп60

Срп60 β – β -субъединица хлоропластного шаперонина Срп60

PRK – фосфорибулокиназа

PPFD – плотность потока фотонов в диапазоне ФАР

RCA – активизатор Рубиско

Ru5P – рибулозо-5-фосфат

RuBP – рибулозо-1,5-бисфосфат

Y(II) – эффективный квантовый выход фотосистемы II

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Обеспечение растущего населения Земли высококачественным растительным белком является важной задачей современного агропромышленного комплекса. Семена зернобобовых культур, в частности гороха, служат одним из основных источников растительного белка для питания человека и кормопроизводства. Однако за последние десятилетия темпы прироста урожайности основных сельскохозяйственных культур замедлились и вышли на плато. Дальнейшее расширение посевных площадей невозможно из-за дефицита земельных ресурсов, урбанизации и климатических изменений. В этих условиях ключевым резервом становится улучшение питательной ценности семян, которое определяется содержанием белка, крахмала и масел. Однако биосинтез этих запасных веществ требует значительных затрат энергии и CO_2 . Традиционно считалось, что единственным источником ассимилятов для формирующихся семян служат листья материнского растения. Однако в последние десятилетия накоплены данные, свидетельствующие о том, что у многих видов растений в процессе формирования плодов зародыши, а также перикарпий и кожура, обладают функциональным фотосинтетическим аппаратом, который способен генерировать АТФ и НАДФН, а также ферментом Рубиско, который фиксирует CO_2 , выделяемый митохондриями при дыхании. Это особенно важно для синтеза белка, поскольку синтез аминокислот требует значительных затрат восстановительных эквивалентов.

Особый интерес представляет спектральный состав света, который достигает зародыша. Поскольку перикарпий и кожура являются эффективными оптическими фильтрами, задерживающими синее и красное излучение, семядоли функционируют в условиях фотосинтетически активной радиации (ФАР), обогащённой зелёной частью спектра. Зелёный свет долгое время считался физиологически незначимым. Однако в последние годы было доказано, что он способен проникать глубоко в растительные ткани и стимулировать фотосинтез в слоях, недоступных для других длин волн. До настоящего времени влияние

зелёного света на фотозависимые синтетические процессы в формирующихся семенах оставалось неизученным.

Детальное понимание механизмов действия зеленого света позволяет разработать целенаправленные стратегии повышения питательной ценности семян посредством оптимизации условий выращивания или селекции.

Степень разработанности

Изучению фотосинтеза листьев посвящено множество фундаментальных исследований, начиная с классических работ по пигментам, фотохимическим реакциям и газообмену и заканчивая современными молекулярно-генетическими подходами. При этом фотосинтетическая активность репродуктивных органов растений долгое время оставалась без внимания ученых, поскольку считалось, что цветки, плоды и семена являются исключительно акцепторами ассимилятов, поступающих из листьев. Лишь в последние десятилетия накоплены данные о наличии фотосинтетических пигментов и функциональных хлоропластов в плодах, цветках и семенах многих видов растений. Однако большинство этих работ носят описательный характер и не раскрывают механизмы регуляции нелистового фотосинтеза. Особенно это касается зародыша семени, в клетках которого фотохимические реакции происходят при низкой интенсивности и измененном спектральном составе света.

Роль зеленого света в фотохимических реакциях растений также долгое время не изучалась из-за низкой степени его поглощения фотосинтетическими пигментами. Лишь в последние годы появились работы, показывающие, что зелёный свет способен проникать в глубокие слои мезофилла листьев и стимулировать фотосинтез там, где плотность потока красных и синих квантов света резко снижена. Более того, именно зелёные фотоны являются преобладающими в диапазоне ФАР, достигающей внутренних тканей репродуктивных органов, что делает его изучение особенно актуальным. При этом влияние зелёного света на фотохимические процессы в зародышах семян ранее исследовано не было.

Таким образом, несмотря на значимость нелистового фотосинтеза для продуктивности растений, особенно в условиях стресса, степень разработанности проблемы остаётся низкой. Настоящее исследование впервые предлагает целостное понимание механизмов влияния зелёного света на фотозависимые процессы в зародышах семян. В работе проанализировано влияние зеленого света на фотохимические параметры формирующихся семян гороха, уровни транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско, а также на содержание первичных метаболитов и накопление запасных питательных веществ.

Цель и задачи исследования

Цель работы заключалась в изучении влияния зелёного света на фотозависимые процессы в формирующихся семенах гороха.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

1. Исследовать спектральный состав света, достигающего семядолей через перикарпий и кожуру на ранней и средней стадиях созревания семян гороха.
2. Изучить влияние зеленого света на содержание хлорофиллов и каротиноидов в тканях перикарпия, кожуры и семядолей на средней стадии созревания семян гороха.
3. Методом РАМ-флуориметрии провести анализ влияния зеленого света на фотохимическую активность перикарпия, кожуры и семядолей на средней стадии созревания семян гороха.
4. Изучить влияние зеленого света на относительные уровни транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско, в перикарпиях, кожуре и семядолях на средней стадии созревания семян гороха.
5. Провести сравнительную оценку посевных и пищевых качеств семян гороха, созревание которых происходило при красно-синем освещении и красно-синем освещении с добавлением зеленого света.
6. Провести метаболомный анализ семян гороха, созревание которых происходило при красно-синем освещении и красно-синем освещении с добавлением зеленого света, методом газовой хроматографии, сопряженной с

масс-спектрометрией, и обращённо-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное исследование влияния зелёного света на фотозависимые процессы в формирующихся семенах гороха. Проведена оценка спектральных характеристик света, достигающего зародышей и показано, что ФАР, проникающая сквозь перикарпий и кожуру, обогащена излучением в зелёной области спектра, при низком уровне красного и отсутствии синего света. Выявлено, что фотоны зеленой области спектра способны проникать к развивающимся семядолям через перикарпий и кожуру и повышать фотохимическую активность семядолей, частично устраняя дефицит красных и синих фотонов. Установлено, что зелёный свет повышал уровень транскрипции гена *Срп60а*, который кодирует шаперонин, связанный с фолдингом Рубиско, в листьях и семядолях гороха. Впервые продемонстрировано, что длительное воздействие зелёного света в период формирования семян положительно влияет на их качество. Установлено, что семена, сформировавшиеся при добавлении зелёного света к синему и красному, отличались повышенной биомассой и более высоким содержанием белка. Впервые выполнен метаболомный анализ зародышей зрелых семян гороха методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией и обращённо-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии и выявлены значимые биохимические различия между семенами, сформировавшимися при разных условиях освещения. Выявлено, что добавление зеленого света к красному и синему спектрам приводило к увеличению содержания орнитина, аргинина и аспарагиновой кислоты, которые являются ключевыми метаболитами орнитинового цикла и предшественниками полиаминов.

Теоретическая и практическая значимость

В работе впервые представлена комплексная оценка влияния зеленого света на развитие семян гороха. Практическая значимость работы заключается в научном обосновании применения зелёного света для управления качеством семян.

Установленные закономерности влияния зеленого света на эффективность фотозависимых процессов в формирующихся семенах гороха открывают возможности для оптимизации спектрального состава освещения в фитотронах и теплицах. Практическое применение этих данных позволит увеличить массы семян гороха, повысить содержание белка и улучшить их посевные характеристики. Результаты работы способствуют развитию современных стратегий светокультуры и могут быть использованы в селекции стрессоустойчивых сортов, что отвечает приоритетам продовольственной безопасности и развития агропромышленного комплекса.

Методология и методы исследования

Методологическую основу исследования составил комплексный подход, включающий биофизические методы (РАМ-флуориметрия), молекулярно-генетические методы (количественная ПЦР в режиме реального времени), биохимические методы, в том числе высокоэффективный метаболомный анализ, статистическую обработку данных, а также анализ отечественных и зарубежных литературных источников.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Зелёный свет является доминирующим в спектре фотосинтетически активной радиации, которая проникает к семядолям через покровные ткани плодов гороха при созревании семян. Добавление зелёного света к красному и синему свету приводит к увеличению в формирующихся семядолях гороха содержания фотосинтетических пигментов, отношения хлорофилла *b* к хлорофиллу *a* и каротиноидов к хлорофиллам, а также повышению фотохимической активности, которое проявляется в увеличении максимального квантового выхода (PHI_{Po}) и индекса фотосинтетической производительности (PI_{ABS}) на фоне понижения удельного потока диссипации энергии (DIo/RC).
2. Зелёный свет модулирует транскрипцию генов, связанных с активностью Рубиско. Добавление зелёного света повышает уровень транскрипции гена,

кодирующего белок-шаперонин Сrp60α, который участвует в сборке и поддержании функционального состояния Рубиско в семядолях.

3. Зелёный свет улучшает пищевые качества семян гороха, повышая массу и содержание белка, а также изменяя профиль первичных метаболитов в сторону накопления предшественников полиаминов. При добавлении зелёного света в зародышах зрелых семян возрастает содержание орнитина, триптофана, аргинина и аспарагиновой кислоты.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обеспечена применением современного высокоточного оборудования и адекватных методов статистической обработки. Материалы диссертации представлены на 10 российских и международных научных конференциях, в том числе: Отчетные конференции аспирантов ФГУ «ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН», Москва, 2023–2025; Всероссийская научная конференция с международным участием «Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий», Н. Новгород, 27–30.09.2022; VII Международная научная конференция «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» (PlantGen), Казань, 18–23.09.2023; X Съезд Общества физиологов растений России «Биология растений в эпоху глобальных изменений климата», Уфа, 18–23.09.2023; 77-ая Международная школа-конференция молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Н. Новгород, 15–19.04.2024; IV Международная научно-практическая конференция (GenBio), Москва, 07–11.10.2024; XXIII Пушкинские чтения по фотосинтезу и Всероссийская конференция с международным участием «Фотосинтез: современное понимание ключевого процесса биосферы», Пушкино, 16–21.06.2025; VII Всероссийская научная конференция с международным участием «Устойчивость растений и микроорганизмов к неблагоприятным факторам среды», посвященная 65-летию СИФИБР СО РАН, Иркутск, 05–10.07.2026.

По материалам диссертации опубликовано 17 работ, из которых 4 научные статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень рекомендованных ВАК РФ изданий, 12 тезисов докладов российских и международных научных конференций. Имеется патент РФ на полезную модель № RU220784/ 03.10.2023 «Устройство для выращивания растений».

Личный вклад автора

Все результаты, представленные в данной диссертационной работе, получены автором лично или при его непосредственном участии. Технические процедуры, предусмотренные методиками в рамках данного исследования, выполнены соискателем самостоятельно или при его непосредственном участии. Обоснование целей и задач исследования, интерпретация полученных данных, а также подготовка материалов к публикации осуществлялись совместно с научным руководителем.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа (156 стр.) состоит из введения, литературного обзора, раздела материалы и методы, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы (277 источников) и приложения. Включает в себя 23 рисунка, а также 13 таблиц, 8 из которых расположены в тексте, а 5 таблиц вынесены в приложение.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Роль зеленого света в процессах роста и развития растений

1.1.1. Фотосинтетическая активная радиация и фитоценозы

Свет является важнейшим абиотическим фактором для растений, который не только обеспечивает их энергией, необходимой для фотосинтеза, но и служит сигнальным элементом, модулирующим рост и развитие растений (Ptushenko et al., 2020; Dalal and Misra, 2023; Stamford et al., 2023). Интенсивность света и его спектральный состав оказывают значительное воздействие на физиологические, морфологические и биохимические характеристики растений (Abhijita et al., 2023; Stamford et al., 2023). В солнечном спектре выделяют три основных области, которые оказывают значительное влияние на рост и морфогенез растений: ультрафиолетовое излучение (область высокоэнергичных фотонов), фотосинтетически активную радиацию (ФАР), а также область низкоэнергетических фотонов — дальний красный свет (ДКС) (Рис. 1) (Stamford et al., 2023). Спектральный диапазон ФАР представляет собой диапазон от 400 до 700 нм (Stamford et al., 2023; Lauria et al., 2024). Данный диапазон также часто называют областью видимого излучения. Однако в последнее время предложено расширить его пределы до 750 нм (Zhen et al., 2022; Stamford et al., 2023), поскольку существуют фотосинтетические пигменты, поглощающие свет в диапазоне более 700 нм.

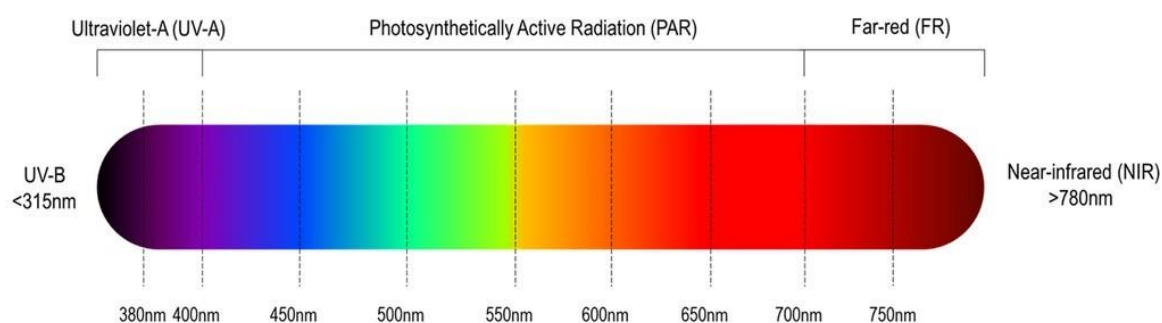


Рисунок 1 — Диапазоны электромагнитного спектра, поглощаемые растениями и используемые для обеспечения фотосинтеза (Stamford et al., 2023)

Интенсивность света можно выражать в единицах энергии (Вт) на единицу площади (м^2): этот показатель используют при оценке баланса энергии фотосинтезирующих организмов. Однако, поскольку фотосинтез является квантовым процессом, то в физиологии растений ФАР чаще оценивают по плотности фотосинтетического фотонного потока (PPFD, Photosynthetic Photon Flux Density). Он характеризует количество фотонов (моль), падающих на площадь (м^2) за секунду [$\mu\text{моль}(\text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1})$] (Stamford et al., 2023).

Наиболее детально изучено влияние на физиологические процессы растений красного (600–700 нм) и синего (400–500 нм) диапазонов спектра (Табл. 1). Красный свет обладает наибольшим квантовым выходом в процессе фотосинтеза. Однако при монохроматическом (~ 660 нм) облучении он может не только снижать эффективность фотосинтеза, но (при длительной экспозиции) и вызывать повреждение пигмент-белковых комплексов (Abhijita et al., 2023). Так, у салата (*Lactuca sativa*) и шпината (*Spinacia oleracea*), выращенных под красным светом, наблюдалось снижение содержания хлорофиллов и каротиноидов, но при этом формировались более удлиненные черешки и листовые пластины (Trouwborst et al., 2010). Кроме того, красный свет регулирует процессы цветения и плодоношения растений, а также способствует увеличению диаметра стебля и опосредует ветвление (Chen et al., 2019b; Chen et al., 2020).

Синий свет (400–500 нм) активизирует фотосинтетические процессы, способствуя более эффективному поглощению световой энергии, стимулирует синтез хлорофиллов, а также улучшает газообмен за счёт регуляции работы устьичного аппарата (Abhijita et al., 2023). Растения, адаптированные к дополнительному синему освещению, проявляют заметно меньшую степень фотоингибирования при избыточном освещении, чем растения, выращенные при других спектральных режимах (Kang et al., 2021). Вероятно, это связано с тем, что под воздействием синего спектра в растениях активнее вырабатываются антиоксиданты, витамины и антоцианы. В то же время дефицит синего света приводит к снижению фотосинтетической продуктивности растений, вызывая так называемый «синдром красного света» (Trouwborst et al., 2016). Показано, что

синий свет опосредует снижение соотношения побег/корень, поскольку происходит торможение роста растяжением клеток стебля. При избытке синего света растения не вытягиваются, стебель утолщается, сокращается длина междоузлий, возрастает плотность тканей. При этом активируется рост первичного корня и повышается количество боковых корней (Bantis et al., 2016; Izzo et al., 2020).

Применение комбинации красного (КС) и синего (СС) света при выращивании растений сопровождается синергетическим эффектом. Данное явление, демонстрирующее суммарное превосходство эффектов от спектров красных и синих длин волн по отдельности, называют «Эффектом усиления Эмерсона». Именно это обстоятельство и послужило основанием Р. Эмерсону предположить, что для световых процессов фотосинтеза необходимо взаимодействие двух фотосистем (фотосистем I и II). Сочетание КС и СС, как правило, способствует накоплению биомассы растений, формированию хорошо развитой палисадной ткани (столбчатой хлоренхимы) и большого количества хлоропластов. У листьев томата (*Solanum lycopersicum*) при их равном соотношении (1:1) наблюдалось повышение P_n (чистая фотосинтетическая скорость, измеряемая как количество CO_2 , ассимилированного листом за единицу времени на единицу площади) (XiaoYing et al., 2011). Было показано, что с увеличением доли КС до 95% повышалось количество плодов и сырой массы у растений томата (*Solanum lycopersicum*) (Gómez et al., 2013). При соотношении 80% КС и 20% СС у растений огурца (*Cucumis sativus*) наблюдалось увеличение массы листа на единицу площади, перераспределение сухой массы, что также сопровождалось снижением скорости образования листьев и высоты растений (Trouwborst et al., 2010). В условиях преобладания синего света (80% СС и 20% КС) были зафиксированы уменьшение высоты растений, площади листьев и прицветников, а также снижение содержания хлорофиллов в листьях (Ouzounis et al., 2016).

Дальний красный свет не участвует в процессах фотосинтеза, однако растения воспринимают его как информативный сигнал о состоянии окружающей среды (Folta and Maruhnich, 2007). Соотношение красного света (КС) к дальнему красному

свету (ДКС) выступает ключевым регулятором ряда молекулярных, биохимических и морфологических процессов (Folta and Maruhnich, 2007). Подробная информация о влиянии спектрального состава света на растения представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Влияние спектрального состава света на растения (Abhijita et al., 2023)

Спектральный диапазон света	Физиологические эффекты	Источники литературы
Синий (С)	Замедление роста клеток растений растяжением, снижение соотношения побег/корень. Уменьшение сухой массы, площади листьев, длины стебля. Мелкие и темно-зеленые листья, высокое содержание Хл <i>a</i> и <i>b</i> . Плотное расположение палисадных тканей. Хлоропласты удлинённой формы. Повышенная устьичная проводимость и скорость транспирации. Высокие показатели максимального фотохимического квантового выхода ФС II (Fv/Fm) и нефотохимического тушения флуоресценции хлорофиллов (NPQ). Высокая активность Рубиско.	Bantis et al., 2016; Izzo et al., 2020; Kang et al., 2021
Красный (К)	Активация линейного и радиального роста стебля, стимуляция ветвления. Мелкие листья, рыхлая палисадная ткань, снижение содержания хлорофиллов и каротиноидов. Хлоропласты короткие, с плотно упакованными тилакоидными гранами и большим количеством крахмальных зерен. Высокий показатель Fv/Fm, низкая активность Рубиско.	Chen et al., 2019b
С (50%) К (50%)	Повышение скорости ассимиляции CO ₂ (Pn) в листьях. Хорошо развитая палисадная ткань и хлоропласты. Низкий пул пластохинонов, высокая активность Рубиско.	XiaoYing et al., 2011
С (5%) К (95%)	Увеличение числа узлов стебля, плодов и сырой массы.	Gómez et al., 2013
С (20%) К (80%)	Увеличение массы листьев. Снижение скорости образования листьев и высоты растений.	Trouwborst et al., 2010

С (80%) К (20%)	Уменьшение высоты растений, площади листьев, снижение содержания хлорофиллов в листьях.	Ouzounis et al., 2014
Дальний красный	Удлинение растений. Индукция цветения у растений длинного дня. Увеличение плотности тилакоидных гран. Снижение соотношения Хл <i>a/b</i> . Снижение Fv/Fm и NPQ.	Franklin, 2008; Kalaitzoglou et al., 2019; Zheng et al., 2019; Kono et al., 2020
Белый	Повышенная скорость образования плодов. Более высокая степень окисления P ₇₀₀ в ФС I.	Yang et al., 2018
Желтый	Снижение скорости накопления сухого вещества.	Paradiso and Proietti, 2022
Зеленый	Увеличение скорости накопления сухого вещества. Повышение эффективности фотосинтеза. Увеличение длины стебля (томат), черешка (редис), площади листьев (огурец) и у площади листьев (перец). Снижение соотношения Хл <i>a/b</i> .	Terashima et al., 2009; Snowden et al., 2016

Соотношение КС / ДКС мало зависит от погодных условий или времени года, однако оно существенно меняется в утренние предрассветные и сумеречные часы (Holmes and Smith, 1977). В сумеречные периоды увеличивается длина пути солнечного света через атмосферу Земли, что приводит к усиленному поглощению и рассеянию коротковолнового излучения. В результате к земной поверхности проникает преимущественно длинноволновая часть спектра (Holmes and Smith, 1977), обуславливая резкое снижение соотношения КС / ДКС (Holmes and Smith, 1977). Наиболее существенное изменение КС / ДКС наблюдалось при отражении от растительных тканей или при прохождении света сквозь них. В результате спектр отражённого или рассеянного света обогащён дальними красными (а также зелеными) длинами волн (Morales and Kaiser, 2020). Для растений снижение соотношения КС/ДКС служит сигналом затенения (Ji et al., 2019; Kalaitzoglou et al., 2019). Регистрируя изменение этого соотношения при помощи фитохромов, растение может заблаговременно инициировать адаптивную реакцию, которую называют *синдром избегания тени* (shade avoidance syndrome) (Ji et al., 2019; Morales and Kaiser, 2020). Показано, что интенсивность ФАР при прохождении

через лист *Arabidopsis thaliana* уменьшалась с 1500 до 120 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, а соотношение КС / ДКС с 1.2 до 0.2 (Franklin, 2008). При продолжительном сигнале о снижении соотношения КС:ДКС и невозможности избежать затенения растение быстрее переходит к стадии цветения, что способствует более раннему завязыванию плодов и формированию семян (Donohue et al., 2001). Однако, подобные адаптации сопровождались снижением содержания хлорофиллов, уменьшением площади листовых пластинок и массы побегов, и, в результате, снижением урожайности (Franklin, 2008).

Помимо спектрального состава, важным фактором, определяющим морфофизиологические параметры и продуктивность растений, является интенсивность света (Табл. 2). При низкой освещенности (20–50 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) формируются светло-зеленые листья с хлоропластами эллипсоидной формы, снижается содержание хлорофиллов, нарушается развитие палисадной паренхимы, что сопровождается уменьшением биомассы растений и диаметра стебля (Wang et al., 2018). Оптимальный рост наблюдался в диапазоне 300–550 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, где фиксировались наибольшие показатели биомассы растений, толщины листа, числа палисадных клеток и диаметра стебля (Gonçalves et al., 2008; Fan et al., 2013; Tian et al., 2017; Wang et al., 2018). При 650 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ возрастала урожайность и масличность семян (*A. thaliana*), тогда как при 4000 $\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ развивался стресс, вызванный высокой интенсивностью освещения, адаптация к которому приводила к сокращению количества хлоропластов. Однако, у других видов подобный стресс могут вызывать и более низкие значения интенсивности света (Tian et al., 2017).

Таблица 2 — Влияние интенсивности освещения на растения (Abhijita et al., 2023)

$\mu\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$	Физиологические эффекты	Источники литературы
20	Светло-зелёные листья, хлоропласты эллипсоидной формы, отсутствие крахмальных гранул, низкое содержание Хл <i>a</i> и <i>b</i> .	Wang et al., 2018
50	Небольшой диаметр стебля, низкая биомасса, неполное развитие палисадной паренхимы.	

100	Темно-зеленые листья, хлоропласты эллипсоидной формы, более крупная и упругая мембрана хлоропластов, ламеллярные граны ярко-выраженные и темные.	Wang et al., 2018
300	Увеличение биомассы, утолщение листовой пластинки, увеличение количества палисадных клеток и паренхимных клеток.	Gonçalves et al., 2008
400	Темные граны ламеллы, узкие промежутки между тилакоидными мембранами, содержащие большое количество осмиофильных глобул, утолщение плодов.	Tian et al., 2017; Wang et al., 2018
550	Большой диаметр стебля, биомасса, снижение удельной площади листьев, более короткие клетки мезофилла.	Fan et al., 2013
650	Увеличение урожайности семян, массы семян и содержания масла в семенах.	Tian et al., 2017
4000	Уменьшение количества хлоропластов.	

Известно, что фотосинтетическая способность растений падает по мере снижения доступности света от верхнего яруса к нижнему (Niinemets and Anten, 2009). Поскольку лист поглощает фотоны избирательно (в основном, в синем и красном диапазоне), спектральный состав света меняется внутри листового полога: проникающее солнечное излучение сокращается в синей и красной частях спектра и обогащается зелеными и дальними красными диапазонами волн (Niinemets and Anten, 2009). Доля ДКС и зеленого спектра света в общем световом потоке увеличивается благодаря избирательному светопропусканию растительных тканей, а также отражению этих длин волн от поверхности листьев (Folta and Maruhnich, 2007; Franklin, 2008; Casal, 2013; Wang and Folta, 2013; Aasamaa and Aphalo, 2016; Smith et al., 2017). В результате освещенность внутри листового полога распределяется неравномерно: интенсивность света в верхних слоях часто превышает показатели нижних более чем в 50 раз (Niinemets and Anten, 2009).

Так, например, было показано, что в листьях *Arabidopsis thaliana* пропускание света в синей, зелёной, красной и дальней красной областях составляло 0.8 %, 23.9 %, 2.9 % и 54.5 % соответственно (Hao et al., 2023). При рассеянном свете лист поглощает на 2–3% меньше энергии, чем при воздействии

прямых лучей, тогда как его отражательная способность, наоборот, увеличивается (Brodersen and Vogelmann, 2007; Xiao et al., 2016).

Известно также, что интенсивность распределения света сильно меняется в течение дня и в течение всего вегетационного сезона (Niinemets and Anten, 2009; Aasamaa and Aphalo, 2016). Выявленные колебания доступности солнечной энергии вносят существенный вклад в продуктивность сельскохозяйственных растений (Lawson et al., 2012). При этом растения используют две основные стратегии для адаптации к недостатку света: избегание тени и теневыносливость (Aasamaa and Aphalo, 2016). Светолюбивые виды растений преимущественно используют свои ресурсы для роста к источнику света, а теневыносливые – для эффективного поглощения и использования скудной световой энергии в условиях затенения (Aasamaa and Aphalo, 2016).

1.1.2. Физиологические процессы растений, контролируемые зеленым светом

Долгое время в науке преобладало мнение о незначительной роли зеленого света (500–600 нм) в физиологических процессах растений в связи со слабым поглощением зеленых фотонов (Wang and Folta, 2013; Smith et al., 2017; Kume, 2017). Однако в последние годы накоплены убедительные данные, свидетельствующие о том, что зелёный свет не только поглощается растительными тканями, но и активно регулирует ключевые процессы онтогенеза — от прорастания семян до цветения, включая рост корней и удлинение стеблей (Головацкая и Карначук, 2015; Smith et al., 2017; Hao et al., 2023) (Табл. 1).

Растительные ткани отражают до 50% зелёного света (Holmes and Smith, 1977; Wang and Folta, 2013). Остальная часть фотонов этого диапазона проходит вглубь тканей (Terashima et al., 2009; Snowden et al., 2016; Smith et al., 2017). Так называемое «зелёное окно», образующееся за счёт слабого поглощения хлорофиллами зеленого света и высокой преломляющей способности тканей листа, обеспечивает до 80 % квантов зеленого света, достигающих глубоких слоев мезофилла листа (Terashima et al., 2009).

Получены убедительные данные о вовлеченности зеленого света в регуляцию фототропических реакций у растительных организмов. Так, например, было показано, что зелёный свет выступает положительным регулятором так называемого «синдрома избегания тени» при развитии растений в условиях либо избытка дальнего красного света, либо при пониженной доли синего света (Smith et al., 2017; Teixeira, 2020; Hao et al., 2023). Эта реакция проявляется в удлинении стеблей и их гипонастическом изгибе, что позволяет растению эффективнее улавливать фотоны (Zhang et al., 2011a). Добавление зелёного света в спектр освещения стимулировало проявление синдрома избегания тени у растений *Arabidopsis thaliana*, *Ocimum basilicum*, *Lactuca sativa* (Folta and Maruhnich, 2007; Kudo et al., 2011; Zhang et al., 2011a; Dou et al., 2019; Meng et al., 2019). У арабидопсиса зеленый свет также стимулировал удлинение гипокотилия во время деэтиоляции (Hao et al., 2023). Однако, для подобных реакций растениям требовалась высокая интенсивность освещения, а также продолжительное время воздействия (Folta and Maruhnich, 2007).

Процесс прорастания семян контролируется различными фоторецепторами: фитохромы (воспринимающие красный и дальний красный свет) регулируют выход семян из покоя, в то время как криптохромы (рецепторы синего света) могут подавлять его (Kendrick and Russell, 1975; Bewley, 2013). При этом показано, что зелёный свет может действовать аналогично синему, ингибируя выход из покоя у светозависимых семян (Goggin and Steadman, 2013; Wang and Folta, 2013).

Установлено, что зеленый свет способствует увеличению сырой биомассы растений и увеличению площади листьев, но этот эффект часто зависит от вида и сорта растений. Положительное влияние зеленого света продемонстрировано на растениях салата (*Lactuca sativa*), базилика (*Ocimum basilicum*) и томата (*Solanum lycopersicum*) (Kaiser et al., 2019; Chen et al., 2024). Добавление зелёного света в спектр освещения при выращивании базилика способствовало увеличению биомассы растений, увеличению количества, длины и площади листьев, а также сопровождалось удлинением стебля (Schenkels et al., 2020). У овса (*Avena sativa*) зеленый свет повышал скорость роста и способствовал удлинению вегетативных

органов (Головацкая и Карначук, 2015). При изучении влияния зеленого света на землянику (*Fragaria*) было также отмечено увеличение роста растений и массы плодов (Kudo et al., 2011), а также повышение содержания сахаров в плодах (Avendaño-Abarca et al., 2023). Данные об увеличении биомассы и урожайности растений под действием зеленого света, были получены для томатов (*Solanum lycopersicum*) (Kaiser et al., 2019), огурцов (*Cucumis sativus*) (Ma et al., 2022) и имбиря (*Zingiber officinale*) (Lv et al., 2022).

Самым распространенным абиотическим стрессором, ограничивающим рост и урожайность сельскохозяйственных культур, является засуха. В ряде исследований сообщается, что зелёный свет повышал устойчивость растений к дефициту влаги за счёт регуляции работы устьичного аппарата томатов (*Solanum lycopersicum*) (Bian et al., 2021) и огурцов (*Cucumis sativus*) (Ma et al., 2022). Работа замыкающих клеток устьиц регулируется как условиями окружающей среды, такими как свет, уровень CO₂ и влажность, так и гормональной системой, а именно – абсцизовой кислотой (АБК) (Qu et al., 2020; Bian et al., 2021). Предполагают, что зелёный свет может способствовать деактивации криптохромного ответа, благодаря чему происходит активация синтеза АБК и уменьшение ширины устьичной щели (Smith et al., 2017). Воздействие зеленого света также повышало эффективность использования воды у растений земляники, что проявлялось в снижении скорости транспирации и устьичной проводимости (Avendaño-Abarca et al., 2023). В исследованиях, проводимых на дыне (*Cucumis melo*), продемонстрировано, что добавление зелёного света в спектр освещения значительно повышало засухоустойчивость проростков путем снижения устьичной проводимости, ингибирования негативного воздействия активных форм кислорода (АФК), а также регуляцией синтеза АБК (Li et al., 2024b). В исследовании на растениях имбиря (*Zingiber officinale*) также показано, что добавление зеленого света стимулировало диссипацию световой энергии. Это предотвращало вызванный её избытком синтез АФК в хлоропластах (Lv et al., 2022).

Для анализа процессов фотосинтеза общепринятым мировым стандартом является метод РАМ-флуориметрии, основанной на принципе импульсно-

амплитудной модуляции, которая позволяет не только регистрировать, но также визуализировать флуоресценцию хлорофиллов в растительных тканях (Strasser et al., 2004; Гольцев и др., 2016; Lysenko et al., 2022). Существует ряд работ, в которых показано, что добавление зеленого спектра света к белому спектру позволяет эффективнее стимулировать фотосинтетические процессы. Это объясняют способностью фотонов в зеленой области спектра проникать в более глубокие слои растительных тканей, в том числе достигать хлоропластов, расположенных вблизи абаксиальной поверхности листа (Terashima et al., 2009). Так, например, у имбиря (*Zingiber officinale*), добавление зеленого света способствовало увеличению максимального (F_v/F_m) и эффективного ($Y(II)$) квантовых выходов фотосистемы II (ФС II), что, в свою очередь, сопровождалось накоплением крахмальных зерен в хлоропластах, увеличением толщины листовой пластины и накоплением биомассы (Lv et al., 2022).

Эффективность использования зеленого света также была показана на томате (*Solanum lycopersicum*): растения выращивали с фиксированной долей синего света (25%) и варьирующим соотношением красных длин волн (75–35%) и зеленых (0–40%), при интенсивности $100 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (Trojak et al., 2022). Зеленый свет стимулировал повышение эффективного квантового выхода ФС II ($Y(II)$), при этом, не влияя на максимальный квантовый выход (F_v/F_m). С использованием IMAGING PAM (M-Series, Walz, Германия) была продемонстрирована тенденция к понижению нефотохимического тушения (NPQ) по мере повышения доли зеленого света в освещении растений (Trojak et al., 2022).

Аналогичные результаты с использованием LI-6400 с насадкой-флуориметром 6400-40 (LI-6400XTQ, LI-COR, США) были получены и на огурце (*Cucumis sativus*): растения выращивали при различных комбинациях синего, зеленого, красного и дальнего красного света (Claypool and Lieth, 2021). Показатель F_v/F_m в листьях огурца варьировал в пределах 0,79–0,82, при этом наиболее высокие значения были отмечены в присутствии зеленого света, а наименьшие — при монохромном красном освещении.

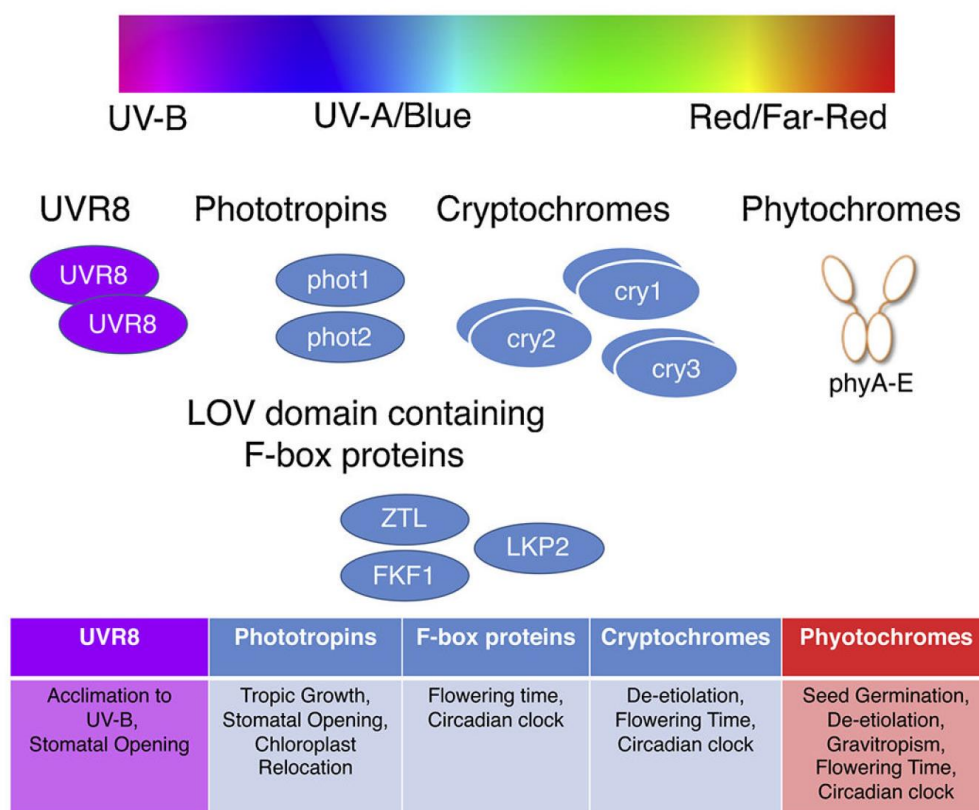
Наряду с оценкой фотохимической активности тканей методом РАМ-флуориметрии, для изучения эффективности фотосинтетических процессов применяют и другие подходы, в частности измерение газообмена, что позволяет определить количество CO_2 , ассимилированного листом за единицу времени на единицу площади (P_n). При увеличении доли зеленого света до 30%, P_n в листьях томата (*Solanum lycopersicum*) возрастал, однако при дальнейшем увеличении до 40%, данный показатель снижался (Trojak et al., 2022). У растений огурца (*Cucumis sativus*) добавление зеленого света не только увеличивало P_n , но и приводило к увеличению высоты растений и площади листовой пластины (Ma et al., 2022). При этом в условиях засухи устьичная проводимость листьев снижалась, что способствовало выживанию растений (Ma et al., 2022).

Li с соавторами (2026) изучали как освещение монохроматическим зеленым светом влияет на морфогенез сои (*Glycine max*) и показали, что зеленый свет способен обеспечить завершение полного жизненного цикла (Li et al., 2026). Транскриптомный анализ выявил 1159 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), из которых у 876 экспрессия была повышенной, а у 283 – пониженной (Li et al., 2026). Авторы сделали вывод о том, что зеленый свет может выступать не только в роли источника световой энергии, но и выполнять сигнальные функции.

1.1.3. Механизмы рецепции света растениями

Будучи неподвижными фотоавтотрофами, растения в процессе эволюции сформировали сложные механизмы адаптации к изменениям условий окружающей среды (Головацкая и Карначук, 2015; Paik and Huq, 2019). Одним из наиболее важных факторов существования растений является свет, который представляет собой внешний сигнал, регулирующий жизненный цикл: от прорастания семени до перехода к цветению и, в конечном счете, к старению (Paik and Huq, 2019). Благодаря фоторецепторам растительный организм способен адаптировать направление роста, метаболизм и развитие к динамическим характеристикам света: его спектральному составу, интенсивности и фотопериоду. В связи с этим для растений крайне важна точная интерпретация получаемой информации, которая

осуществляется посредством системы специализированных фоторецепторов (Paik and Huq, 2019). Восприятие света растениями обеспечивается фитохромами, криптохромами, фототропинами, белками семейства ZEITLUPE и УФ-В фоторецепторами UVR8 (Рис. 2) (Casal, 2012; Tilbrook et al., 2013; Головацкая и Карначук, 2015; Kreslavski et al., 2018; Войцеховская, 2019). Эти фоторецепторы воспринимают свет и генерируют сигналы, запускающие каскады регуляторных реакций на молекулярном, биохимическом, физиологическом и морфологическом уровнях (Paik and Huq, 2019).



Фитохромы phyA–phyE воспринимают красный (650–670 нм) и дальний красный (705–740 нм) свет. Синий свет воспринимается тремя криптохромами (cry1, cry2 и cry3), двумя фототропинами (phot1, phot2) и тремя F-box белками с доменом LOV (ZTL, FKF1 и LKP2). УФ-В свет воспринимается рецептором UVR8

Рисунок 2 — Ключевые фоторецепторы, спектры их поглощения и роль в регуляции физиологических процессов в растениях (на примере арабидопсиса) (Paik and Huq, 2019)

Фоторецепторы растений представляют собой сенсорные белки, содержащие светочувствительные хромофоры, которые избирательно улавливают фотоны определенной длины волны света (Paik and Huq, 2019). Поглощение фотона вызывает перераспределение электронной плотности, что инициирует

конформационные изменения в структуре белка. Этот процесс, в свою очередь, обеспечивает трансдукцию светового сигнала в биохимический ответ (Paik and Huq, 2019).

Фитохромы (Phy, $P_{r/fr}$) реагируют на красную (600–700 нм) и дальнюю красную (700–750 нм) области солнечного спектра (Wang, 2015). Фитохром представляет собой хромопротеин с молекулярной массой около 250 кДа, состоящий из двух мономеров (по ~125 кДа). Каждый мономер ковалентно связан с тетрапирольным хромофором – фитохромобилином, изомеризация которого в ответ на красный и дальний красный свет, вызывает конформационные изменения в структуре белка (Burgie and Vierstra, 2014; Paik and Huq, 2019). Фитохромы представлены двумя изомерами с разными максимумами поглощения: P_{fr} с максимумом поглощения в области 730 нм и P_r с максимумом поглощения в области 660 нм (Wang, 2015; Войцеховская, 2019). Синтез фитохромов осуществляется в цитоплазме клетки в отсутствии света в неактивной форме до момента поглощения фитохромобилином фотонов, что, в свою очередь, опосредует незначительные изменения в хромофорной части фитохрома, приводя к его активации (Войцеховская, 2019).

В этиолированных растениях фитохром, как правило, присутствует в неактивной форме (P_r). При воздействии красного света (650–670 нм) фитохром превращается в физиологически активную форму (P_{fr}) с максимумом поглощения 730 нм. Облучение ДКС (705–740 нм) вызывает обратную фотоконверсию фитохрома в P_r -форму (максимум поглощения 660 нм). Реверсия $P_{fr} \rightarrow P_r$ также может происходить в темноте путем постепенной конформационной терморелаксации белка (Rockwell et al., 2006; Войцеховская, 2019). У арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) известно пять фитохромов (PhyA-E), большая часть которых представлена в виде фотолабильного PhyA, активируемого в ответ на менее чем 1 мкмоль/м² квантов света (от 300 до 780 нм), главная задача которого заключается в программировании фотоморфогенеза, в том числе процесса деэтиоляции (Войцеховская, 2019). Кроме фотоморфогенеза, PhyA играет ключевую роль в

инициации деэтиоляции проростков, а также регулирует адаптацию взрослых двудольных и однодольных растений к условиям затенения (Casal et al., 2014). Остальные фитохромы арабидопсиса (PhyB, PhyD, PhyE) относятся к фотостабильным (Wang, 2015; Войцеховская, 2019). На свету PhyB опосредует заключительные этапы развития фотосинтетического аппарата хлоропластов растения, а также участвует в формировании устьичного аппарата (Casal et al., 2014). PhyB, как и PhyA, участвует в регуляции фотоморфогенеза, но уже у зеленых проростков и взрослых растений в условиях яркого освещения (Casal et al., 2014). Все известные фитохромы арабидопсиса задействованы также в процессах терморегуляции. Регуляция прорастания семян при высоких температурах осуществляется, в основном, PhyB, а при пониженных – PhyE. PhyE и PhyB также ингибируют цветение при понижении или повышении температуры (Sinetova and Los, 2016).

Криптохромы (Cry) – это класс флавиновых фоторецепторов, которые располагают чувствительностью к синему и ультрафиолетовому свету (УФ-А). (Войцеховская, 2019). В качестве хромофора у криптохромов выступает флавинадениндинуклеотид (ФАД), который способен к поглощению света в диапазоне от 320 до 500 нм, а также хромофор птерин (5,10-метенилтетрагидрофолат), который выступает в качестве антенны, передавая на ФАД энергию света ближнего УФ-спектра (370–390 нм) (Mishra and Khurana, 2017; Войцеховская, 2019). При облучении синим светом молекулы криптохрома подвергаются быстрому фосфорилированию, что является важной модификацией для их функционирования (Paik and Huq, 2019). «Синдром избегания тени» связан не только с понижением соотношения КС/ДКС, но и с повышением зеленого света, а также с изменением соотношения синего и зеленого спектров, что также контролируется криптохромами (Sellaro et al., 2010). Активация этих фоторецепторов индуцирует экспрессию множества ядерных генов, участвующих в биогенезе и работе фотосинтетического аппарата растений; примером служит ген *RbcS*, кодирующий малую субъединицу Рубиско (Войцеховская, 2019). Кроме того,

криптохромы играют ключевую роль в регуляции циркадных ритмов, морфогенезе, а также индукции цветения (Paik and Huq, 2019).

Фототропины (Phot) – это рецепторы синего света, регулирующие такие процессы, как фототропизм, движение хлоропластов и работу замыкающих клеток устьичного аппарата (Christie et al., 2015). Фототропины представляют собой серин/треонин-протеинкиназы, которые локализованы вблизи плазмалеммы, но могут быть ассоциированы с внешней мембраной хлоропластов. Они активируются светом, в темноте их киназная активность ингибирована (Войцеховская, 2019). У арабидопсиса обнаружены фотостабильный Phot1 и фотолабильный Phot2 (Christie et al., 2015). Фототропины регулируют фототропизм вегетативных органов растений (побегов, корней и листьев), миграцию хлоропластов в ответ на изменение освещения и температурный режим, а также определяют регуляцию движений устьиц через активацию специальных киназ, специфичных для замыкающих клеток устьиц, приводя к активации H^+ -АТФазы плазмалеммы, вызывая гиперполяризацию мембраны и запуск работы калиевых каналов (Fujii et al., 2017). Фототропины, наряду с фитохромами, также являются терморецепторами растений (Fujii et al., 2017).

Белки семейства Zeitlupe (ZTL, FKF1 и LKP1) являются E3-убиквитин-лигазами. Эти белки, активируемые воздействием синего света, опосредуют убиквитинирование и протеасомную деградацию таких ингибиторов фотоморфогенеза как PIFs (phytochrome-interacting factors, COP (constitutive photomorphogenesis) и др. (Christie et al., 2015; Войцеховская, 2019). Представители данного семейства белков задействованы в контроле и регуляции циркадных часов и цветения. Так, например, ZTL контролирует суточные циркадные ритмы, FKF1 контролирует переход к цветению, а LKP1 участвует в обоих процессах (Christie et al., 2015).

По мере прохождения сквозь листовую полог спектральный состав солнечного света значительно трансформируется. Из-за селективного поглощения пигментами доля красных и синих длин волн солнечного света в нижних ярусах падает до минимума, тогда как относительное содержание зеленого света и

дальнего красного излучения, напротив, возрастает (Wang and Folta, 2013). Долгое время вклад зеленого света считался несущественным, однако, установлено, что до 80% зеленых фотонов достигает глубоких слоев листа через так называемое «зеленое окно», формирующееся благодаря низкому поглощению хлорофилла и высокой преломляющей способности тканей (Terashima et al., 2009). Листья отражают от 10 до 50% зеленого света, тогда как остальная часть фотонов либо поглощаются пигментами или попадает в нижние ярусы кроны в условиях недостатка освещения (Terashima et al., 2009; Smith et al., 2017). Современные исследования свидетельствуют, что зелёный свет активно поглощается растительными клетками, что обуславливает его вовлечённость в регуляцию развития растений на всех ключевых этапах онтогенеза — от прорастания до цветения (Головацкая и Карначук, 2015; Smith et al., 2017; Hao et al., 2023).

Специфический фоторецептор, способный поглощать свет в зеленом диапазоне солнечного спектра на сегодняшний день не идентифицирован. Существуют предположения о возможности поглощения фотонов в зеленом диапазоне солнечного спектра криптохромами, фитохромами и зеаксантином (Folta and Maruhnich, 2007; Wang and Folta, 2013; Chen et al., 2024).

Показано, что под действием зеленого света фитохромы могут переходить в биологически активную форму, поглощающую дальний красный свет (Wang and Folta, 2013). У арабидопсиса зеленый свет стимулировал прорастание семян через активацию PhyB и PhyA (Shinomura et al., 1996; Folta and Maruhnich, 2007).

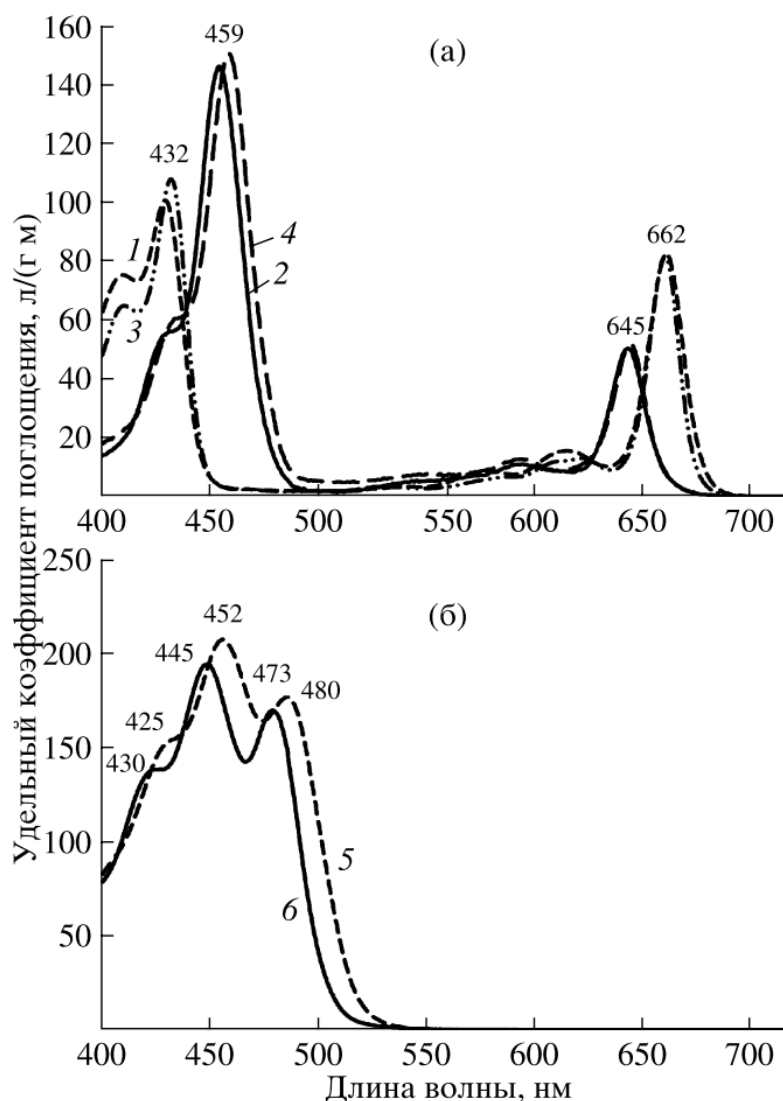
Хотя криптохромы не являются специфическими рецепторами широкополосного зеленого света, однако благодаря высокой квантовой чувствительности они способны эффективно функционировать даже при наличии незначительного количества фотонов синего света в обогащенном зеленым светом растительном пологе (Sellaró et al., 2010; Wang et al., 2013). Показано, что при возбуждении синим светом светочувствительный хромофор криптохромов восстанавливается до семихинона, который способен поглощать излучение в зеленой и желтой частях солнечного спектра (Banerjee et al., 2007). Растения со сверхэкспрессией криптохрома *Cry1*, обладают гиперчувствительностью к

коротковолновому зелёному свету (< 532 нм), тогда как длинноволновый желто-зелёный свет (~ 570 нм) обладает способностью блокировать активацию криптохромного ответа (Battle and Jones, 2020).

Существует также гипотеза о вовлечении каротиноидов в процесс поглощения в зеленой части спектра и передачи электронного возбуждения на хлорофиллы в антенных комплексах фотосистем (Smith et al., 2017).

Каротиноиды входят в состав пигментных комплексов всех фотосинтезирующих организмов, где реализуют антенную, антиоксидантную, фотопротекторную и структурную функции (Britton et al., 2008; Смоликова и Медведев, 2014; Smith et al., 2017; Maoka, 2020; Sandmann, 2021; Sun et al., 2022). Самым распространённым в высших растениях каротиноидом выступает β -каротин, который присутствует в фотосистемах II и I, при этом ксантофиллы содержатся в светособирающих комплексах (Jahns and Holzwarth, 2012; Hashimoto et al., 2016).

Антенная (светособирающая) функция каротиноидов основана на их способности поглощать свет в синей области спектра и переходить в синглетное возбуждённое состояние (S_2). Энергия из этого состояния передаётся на молекулы хлорофилла преимущественно напрямую: благодаря ультракороткому времени жизни S_2 (десятки фемтосекунд) перенос успевает произойти до внутренней конверсии. Лишь небольшая часть энергии релаксирует путем внутренней конверсии в низшее синглетное состояние S_1 , из которого также возможна передача на хлорофилл. В диапазоне ФАР, простирающейся от 400 до 700 нм, Хл имеют два основных максимума поглощения — в синей и красной областях спектра, тогда как Кар эффективно улавливают фотоны в более узком диапазоне солнечного спектра (400–550 нм), где их максимум приходится на 450 и 470 нм (Булда и др., 2008) (Рис. 3). Таким образом каротиноиды могут способствовать более эффективному использованию световой энергии в самой труднодоступной для хлорофиллов спектральной области зеленого света (500–550 нм) (Hashimoto et al., 2016; Smith et al., 2017; Walter and Kromdijk, 2022).



(а) хлорофиллы *a* и *b* в ацетоне (1 и 2, соответственно) и в смеси петролейного эфира и тетрагидрофурана (3 и 4, соответственно); (б) β -каротин (5) и лютеин (6) в смеси петролейного эфира и тетрагидрофурана

Рисунок 3 — Спектры поглощения растворов пигментов (Булда и др., 2008)

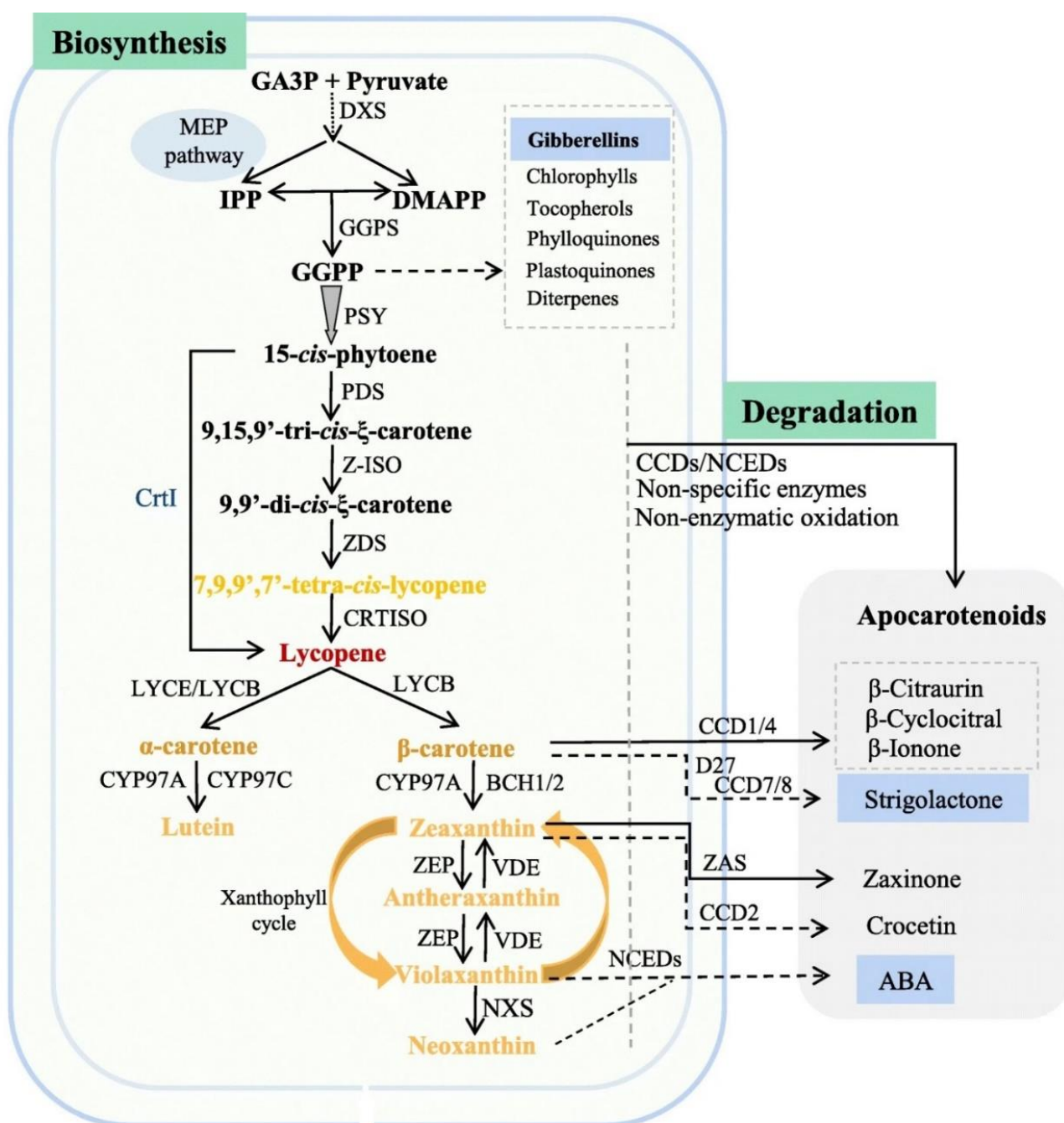
Однако при избыточной интенсивности света молекулы хлорофилла могут переходить в долгоживущее триплетное возбужденное состояние, которое сенсibiliзирует образование токсичного синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$). В этом случае, антиоксидантная функция каротиноидов заключается в их способности принимать энергию возбуждения от триплетного хлорофилла ($^3\text{Хл}^*$) либо синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) и рассеивать ее в виде тепла (Sun et al., 2022).

Фотопротекторная функция каротиноидов также состоит в том, что они защищают фотосинтетический аппарат от фотоокисления на слишком ярком свете через ксантофилловый цикл (Strzalka et al., 2003; Соловченко и Мерзляк, 2008). У

высших растений во время светового стресса виолаксантин превращается в зеаксантин через промежуточный антраксантин при помощи фермента виолаксантин-деэпоксидазы, тогда как обратная реакция выполняется зеаксантин-эпоксидазой (Britton et al., 2008). Эти ферментативные циклы играют ключевую роль в рассеивания энергии в светособирающих комплексах (ССК) посредством нефотохимического тушения — механизма, уменьшающего количество энергии, достигающей фотосинтетических реакционных центров (Britton et al., 2008; Sun et al., 2022).

На рисунке 4 показана схема биосинтеза каротиноидов, в котором используется пластидный МЕР-путь для поставки C5-предшественников — изопентенилдифосфата (IPP) и диметилаллилдифосфата (DMAPP) (Sun et al., 2022).

Начальным ключевым этапом в биосинтезе каротиноидов служит конденсация двух молекул C20-геранилгеранилдифосфата (GGPP) с образованием C40-каротиноида фитоина, где в качестве катализирующего фермента выступает фитоинсинтаза (PSY), являющаяся основным, лимитирующим скорость, ферментом. Деградация каротиноидов включает специфическое ферментативное окислительное расщепление под действием диоксигеназ (CCD) и 9-цис-эпоксикаротиноиддиоксигеназ (NCED), а также неспецифических ферментов и неферментативное окисление. Эти процессы приводят к образованию разнообразных апокаротиноидов, включая фитогормоны — абсцизовую кислоту (АБК) и стриголактоны. Различные типы пластид обладают разной накопительной способностью: от очень малого количества каротиноидов в этиопластах до их огромного количества в хромопластах. Белок OR (Orange) является единственным известным достоверным регулятором биогенеза хромопластов.



ABA – абсцизовая кислота; **BCH** – β -каротингидроксилаза; **CCD** – диоксигеназа расщепления каротиноидов; **CrtI** – бактериальная фитоиндесатураза; **CrtISO** – каротиноидная изомераза; **CYP97A** – цитохром P450-зависимая β -каротингидроксилаза; **CYP97C** – цитохром P450-зависимая ϵ -каротингидроксилаза; **DMAPP** – диметилаллилдифосфат; **DXS** – 1-дезоксид-ксилулозо-5-фосфатсинтаза; **GA3P** – глицеральдегид-3-фосфат; **GGPP** – геранилгеранилдифосфат; **GGPPS** – GGPP-синтаза; **IPP** – изопентенилдифосфат; **LYCB** – ликопин- β -циклаза; **LYCE** – ликопин- ϵ -циклаза; **NCED** – 9-цис-эпоксикаротиноиддиоксигеназа; **NXS** – неоксантинсинтаза; **OR** – белок ORANGE; **PDS** – фитоиндесатураза; **PSY** – фитоинсинтаза; **VDE** – виолаксантин-деэпоксидаза; **ZAS** – заксинонсинтаза; **ZDS** – ζ -каротиндесатураза; **ZEP** – зеаксантинэпоксидаза; **Z-ISO** – ζ -каротинизомераза

Рисунок 4 – Пути метаболизма каротиноидов в пластидах растений (Sun et al., 2022)

1.2. Световые реакции фотосинтеза у высших растений: адаптивная стратегия и вклад в продуктивность

Хорошо известно, что жизнь на нашей планете прямо или косвенно зависит от фотосинтеза, в результате которого с использованием энергии света растения, водоросли и бактерии синтезируют органические соединения (Blankenship, 2002; Dalal and Misra, 2023; Leister, 2023). В процессе оксигенного фотосинтеза, присущего высшим растениям, вода окисляется до кислорода, а диоксид углерода восстанавливается до углеводов. Однако у аноксигенных фотосинтезирующих бактерий в качестве донора электронов используется сероводород, а вместо кислорода могут выделяться другие вещества (например, сера). Поэтому фотосинтез часто трактуют как *«процесс, в котором организм улавливает и запасает световую энергию, а затем использует накопленную энергию для обеспечения клеточных процессов»* (Blankenship, 2002).

1.2.1. Оксигенный фотосинтез в листьях высших растений

У высших растений основным специализированным органом, способным улавливать световую энергию и использовать его для оксигенного фотосинтеза, является лист (Stirbet et al., 2020; Björn et al., 2023). Данный процесс происходит в специальных органеллах — хлоропластах, окруженных двойной мембраной, а также обладающих системой внутренних мембран, которая формирует тилакоиды (Stirbet et al., 2020; Björn et al., 2023). В отличие от наружной мембраны хлоропластов, обладающей высокой проницаемостью для большинства органических молекул, внутренняя мембрана хлоропластов проявляет селективность. Именно внутренняя мембрана хлоропластов контролирует поток белков, липидов, углеводов и органических кислот, поступающих из цитоплазмы и наоборот. Упорядоченные структуры, образованные плотно упакованными тилакоидами, получили название гран. Соединение между соседними гранами осуществляется посредством одиночных тилакоидов, обозначаемых как ламеллы. Вся система тилакоидов локализована в бесцветном матриксе хлоропласта — строме. Белки и пигменты, участвующие в фотохимических реакциях фотосинтеза,

расположены в мембранах тилакоидов. В строме хлоропластов протекают ферментативные реакции темновой фазы фотосинтеза, ведущие к синтезу органических соединений (Blankenship, 2002; Медведев, 2013; Dalal and Misra, 2023; Leister, 2023).

Основные этапы преобразования световой энергии в энергию химических связей органических соединений осуществляются четырьмя мембранными белковыми системами: фотосистемами (ФС) II и I, комплексом цитохромов b_6f и АТФ-синтазой (Blankenship, 2002; Leister, 2003; Nevo et al., 2012; Медведев, 2013; Shevela et al., 2023) (Рис. 5). ФС II (~700 кДа) и ФС I (~340 кДа) представляют собой белковые комплексы, содержащие фотосинтетические пигменты, которые функционируют в тесной связи со светособирающими комплексами (ССК) (Stirbet et al., 2020; Elias et al., 2024). У высших растений обнаружено шесть пигмент связывающих белков (Lhcb1–6), которые образуют внешние светособирающие антенны ФС II, и четыре пигмент связывающих белка (Lhca1–4), которые образуют внешние антенны ФС I (Jahns and Holzwarth, 2012). Три мономера (Lhcb1–3) формируют мобильный антенный комплекс (LHCII), состоящий из Хл *a*, Хл *b* и ксантофиллов (Jahns and Holzwarth, 2012). Пигменты, входящие в состав ССК, поглощают фотоны и далее энергия электронного возбуждения передается на Хл P_{680} в ФС II и P_{700} в ФС I, которые входят в состав реакционных центров фотосистем (РЦ). В РЦ происходит первичное разделение зарядов, которое запускает дальнейшие окислительно-восстановительные реакции.

Таким образом, транспорт электронов по электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) хлоропластов начинается в ФС II, когда P_{680} передает электроны на первичный акцептор – феофитин (Рис. 5). В результате P_{680} переходит в окисленную форму, приобретая способность инициировать процесс фотоокисления воды. Этот процесс протекает в Мп-кластере, также известном как кислород-выделяющий комплекс. Разделение зарядов в РЦ фотосистем выступает центральным событием в световых реакциях фотосинтеза, поскольку именно на этом этапе происходит трансформация физической формы энергии в химическую.

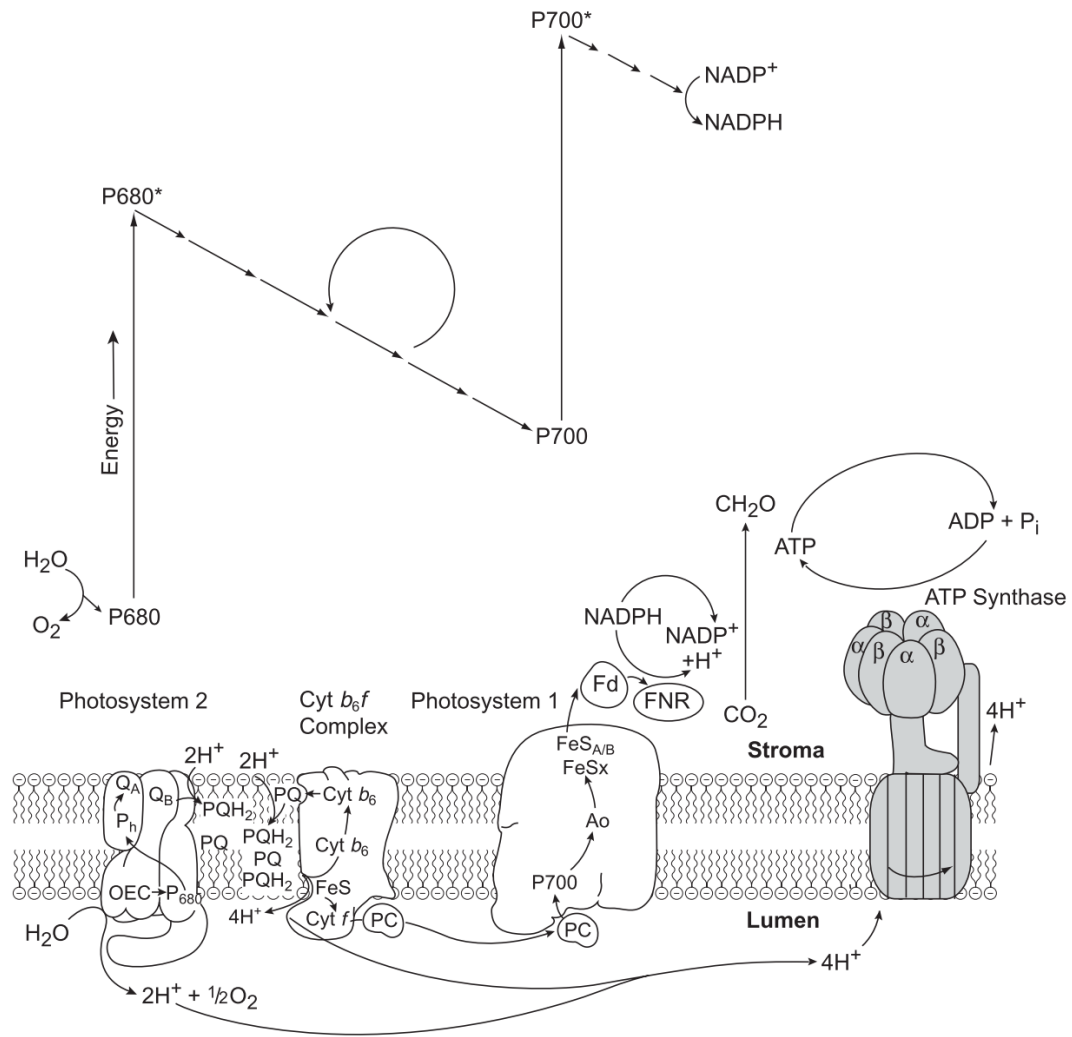


Рисунок 5 — Схема пути нециклического переноса электронов у организмов с оксигенным фотосинтезом (Blankenship, 2002)

ФС II и I связаны между собой комплексом цитохромов b_6/f (Schöttler et al., 2011). В ФС I при поглощении энергии света хлорофилл P_{700} переходит в возбужденное состояние и передает электрон первичному акцептору — Хл a (Ao), а затем филлохинону (A1). Далее через железосерные белки (F_X , F_A , F_B) и ферредоксин-НАДФ-редуктазу электроны идут на восстановление НАДФ⁺ до НАДФН. При циклическом транспорте электроны от восстановленного ферредоксина направляются не на восстановление НАДФ⁺, а поступают на пластохинон, после чего мигрируют к окисленному P_{700} через комплекс цитохромов b_6/f . Следствием циклического пути электронов является формирование протонного градиента на мембране тилакоидов, необходимого для

последующего синтеза АТФ. Таким образом, световые реакции окислительного фотосинтеза обеспечивают трансформацию энергии света в энергию химических связей АТФ и НАДФН. В дальнейшем эта химическая энергия используется в темновых реакциях фотосинтеза (Blankenship, 2002; Leister, 2003; Nevo et al., 2012; Медведев, 2013; Prywes et al., 2023; Shevela et al., 2023).

1.2.2. «Нелистовой» фотосинтез в зеленых тканях растений

Главным органом фотосинтеза и основным источником фотоассимилятов в растениях, несомненно, являются листья (Blankenship, 2002; Медведев, 2013; Dalal and Misra, 2023; Leister, 2023). Тем не менее, у многих растений процесс фотосинтеза может осуществляться не только в тканях листа, но также в других органах, которые способны на свету синтезировать хлорофиллы и формировать хлоропласты (Simkin et al., 2019; Lawson and Milliken, 2023). Показано, что фотосинтетические процессы протекают в черешках листьев и стеблях (Hibberd and Quick, 2002), в коре деревьев и кустарников (Saveyn et al., 2010; Gryaznova et al., 2025), а также в генеративных органах растений, таких как цветы (Leonardos et al., 2014; Ohmiya et al., 2014), плоды (Vemmos et al., 2013; Garrido et al., 2023) и семена (Smolikova and Medvedev, 2016; Cho et al., 2023).

Даже те органы растений, которые развиваются и функционируют в темноте (корни и клубни), на свету способны зеленеть и фотосинтезировать (Simkin et al., 2019). Известно, что растения семейства Orchidaceae, являясь эпифитами, обладают воздушными корнями, которые содержат фотосинтетические пигменты и хлоропласты (Sma-Air and Ritchie, 2020). Показано, что клубни картофеля (*Solanum tuberosum*) в темноте содержат только каротиноиды, но при экспозиции тканей клубней на свету в течение 19 ч в них начинаются синтезироваться Хл *a* и *b* (Anstis and Northcote, 1973).

К поглощению энергии солнечного света и фотосинтезу способны также *стебли*, включая одревесневшие стволы и ветви, а именно – хлоренхима внутренней части коры многолетних растений (Brazel and Ó'Maoileídh, 2019). Например, *Justicia californica* в своем строении не имеет листьев, и стебель

выступает единственным источником фотоассимилятов в процессе роста и развития растения (Ávila et al., 2014). Показано, что фотосинтетический аппарат растений, осуществляющих т.н. «кортикальный» фотосинтез, состоит из тех же белковых комплексов, что и у листьев (Yanykin et al., 2020). При этом отмечено, что в одревесневших тканях затруднен газообмен, а количество света, проходящего через внешнюю кору, варьируется от 6.9 % у березы (*Betula pendula*) до 80 % у бука (*Fagus sylvatica*) (Wittmann and Pfanz, 2007; Yanykin et al., 2020). Сравнительный анализ содержания фотосинтетических пигментов и флуоресценции хлорофиллов в хлоренхиме листьев, молодых побегов и одревесневших черенков винограда выявил повышенное содержание Хл *b* и каротиноидов, а также более высокое соотношение ФС II к ФС I (Тихонов и др., 2017). У большинства растений засушливых экосистем, цветы и плоды образуются, когда стебель является единственным фотосинтетически активным органом (Brazel and Ó'Maoileáidigh, 2019). В случае изолирования главного стебля от света у хлопчатника (*Gossypium hirsutum*) урожайность снижалась на 16% (Simkin et al., 2019), а у африканского баобаба (*Adansonia digitata*) и клещевины (*Ricinus communis*) снижалась масса цветков (Simbo et al., 2013). Установлено, что деревья с активными фотосинтетическими процессами в стеблях обладают более активным ночным сокодвижением (Henry et al., 2020).

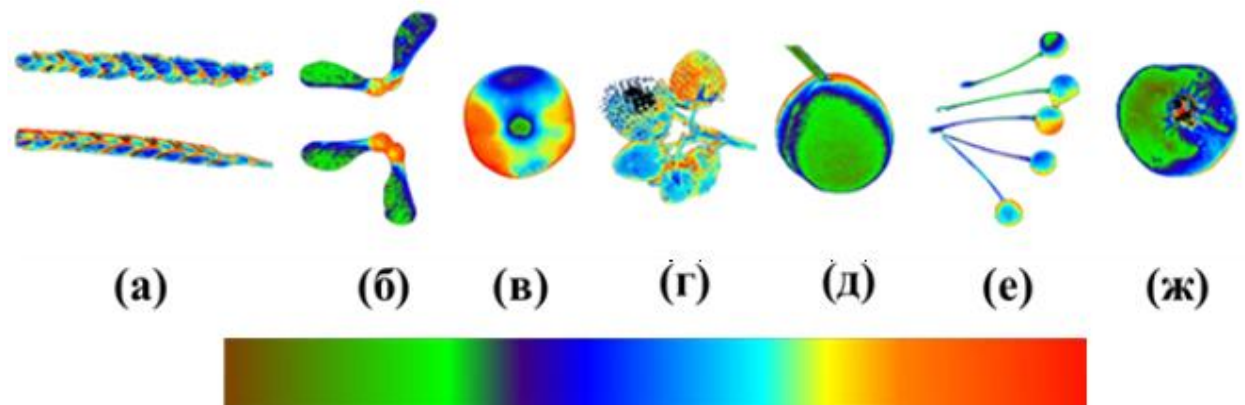
Чашелистики покрытосеменных растений, как правило, обладают зеленой окраской; при этом удаление чашелистиков сразу после цветения приводит к замедлению развития семян (Gutián and Larrinaga, 2014). Лепестки растений также могут содержать хлорофиллы, особенно это заметно на начальной стадии цветения (Brazel and Ó'Maoileáidigh, 2019). Было показано активное участие чашелистиков и лепестков в ассимиляции CO₂ у табака (*Nicotiana tabacum*) именно на ранних стадиях развития бутонов (Müller et al., 2010; Ohmiya et al., 2014).

Плоды растений также представляют интерес с точки зрения повышения урожайности и качества продукции посредством оптимизации фотосинтетических процессов. Плодовая оболочка (перикарпий) часто имеет зеленую окраску, при этом соотношение хлорофиллов и каротиноидов в плодах варьирует у разных

видов растений и зависит как от морфологических характеристик (форма, размер, окраска), так и от анатомического строения тканей (толщина, плотность паренхимы, развитие хлоренхимы) (Garrido et al., 2023). Светопропускание в тканях мясистых плодов составляет от 1 до 50%, и только ~2% проникает в глубокие внутренние ткани. Например у винограда (*Vitis vinifera*) через кожуру (экзокарпий) проходит примерно 40 % солнечной радиации, у яблока (*Malus domestica*) около 30%, у авокадо (*Persea americana*) 1,5% (Garrido et al., 2023). Фотосинтез в плодах возможен только пока наружные ткани сохраняют зелёную окраску, а хлоропласты остаются функциональными и длится до момента превращения хлоропластов в хромопласты (Simkin et al., 2019). Ранее была отмечена значительная фотосинтетическая активность в плодах огурца (*Cucumis sativa*), томата (*Solanum Lycopersicum*), винограда (*Vitis vinifera*), мандарина (*Citrus reticulata*), черники (*Vaccinium myrtillus*), яблока (*Malus domestica*) и пекана (*Carya illinoensis*) (Brazel and Ó'Maoileáidigh, 2019). В перикарпии бобовых растений уровень фотосинтеза составляет 30-90% от уровня фотосинтеза в листьях. Сопоставимые уровни были зафиксированы у рапса (*Brassica napus*) и хлопка (*Gossypium hirsutum*) (Brazel and Ó'Maoileáidigh, 2019). На рисунке 6 показана интенсивность флуоресценции хлорофиллов в плодах разных видов растений, которая характеризует эффективность транспорта электронов по электрон-транспортной цепи хлоропластов (Simkin et al., 2019).

Хорошо известно, что у многих видов растений уже на генеративной стадии онтогенеза начинается старение листьев, что сопровождается деградацией хлорофиллов и резким снижением их фотосинтетической активности (Blankenship, 2002; Медведев, 2013; Dalal and Misra, 2023; Leister, 2023). Это приводит к увеличению вклада зеленых тканей плодов в созревание семян (Garrido et al., 2023). Было показано, что при затенении формирующихся плодов люцерны (*Medicago sativa*) масса семян снижалась на 25–48%, а у рапса (*Brassica napus*) на 50% (Brazel and Ó'Maoileáidigh, 2019). Фотосинтетическая активность в колосьях пшеницы (*Triticum aestivum*) и метелках риса (*Oryza sativa*) обеспечивала от 10 до 60%

урожайности данных зерновых культур (Tambussi et al., 2005; Rivera-Amado et al., 2020; Zhang et al., 2022; Lawson and Milliken, 2023).



(а) колос пшеницы; (б) плоды платана; (в) плод томата; (г) плод земляники; (д) плод сливы; (е) плод вишни; (ж) плод яблока.

Шкала демонстрирует значение F_v / F_m от 0.45 до 0.75 отн. ед. (слева-направо)

Рисунок 6 – Интенсивность флуоресценции хлорофиллов, характеризующая фотохимическую активность ФС II в плодах разных видов растений (Simkin et al., 2019)

Важным аспектом, который активно обсуждается в связи с возможностью осуществления фотосинтеза в нелистовых тканях растений, является *доступность углекислого газа*. Листья эволюционно приспособились для поглощения CO_2 , они имеют большое количество устьиц, которые могут открываться и закрываться, регулируя газообмен. Стебли, плоды, цветы и другие нелистовые ткани либо вообще не имеют устьиц, либо их количество на единицу площади значительно меньше. Кроме того, многие нелистовые ткани (плоды, стебли) часто покрыты толстой кутикулой или корой, которые являются практически непроницаемым барьером для газообмена. Так, например, плотность устьиц в тканях плодов в 10-100 раз ниже, чем в листьях (Brazel and Ó'Maoileáidigh, 2019; Garrido et al., 2023). По мере развития плодов происходит постепенное утолщение кутикулы, что приводит к ограничению диффузии газов через эпидермальные ткани (Lara et al., 2015; Garrido et al., 2023). В связи с этим, в нелистовых тканях используются альтернативные источники углекислого газа, такие как CO_2 , выделяемого митохондриями при дыхании (Aschan and Pfanz, 2003; Simkin et al., 2019; Cho et al., 2023; Stamford et al., 2023; Valverdi et al., 2025). Этот механизм развился как адаптация к фотосинтезу в условиях ограниченного доступа к атмосферному CO_2 .

Таким образом, нелистовой фотосинтез является адаптивным механизмом, обеспечивая семена дополнительными ассимилятами, способствуя их выживаемости и стабильности урожая, особенно при неблагоприятных условиях (Simkin et al., 2019). Это делает его важным объектом исследований в области создания стрессоустойчивых высокоурожайных культур (Araus et al., 2021). Показано, например, что колосья пшеницы (*Triticum aestivum*) были более устойчивы к дефициту воды и высоким температурам, чем листья, что позволяло им более эффективно осуществлять фотохимические реакции в стрессорных условиях (Zhang et al., 2011b). При изучении растений, произрастающих в экстремально засушливых регионах (например, в пустынях), выявлена взаимосвязь между фотосинтетической активностью и гидравлической эффективностью стеблей (Ávila-Lovera et al., 2017). При потере листьев из-за засухи фотосинтез в зелёных стеблях не только компенсировал утрату ассимиляционной поверхности, но и обеспечивал координацию водного и углеродного метаболизма (Ávila-Lovera et al., 2017).

1.3. Фотохимические процессы в формирующихся семенах растений

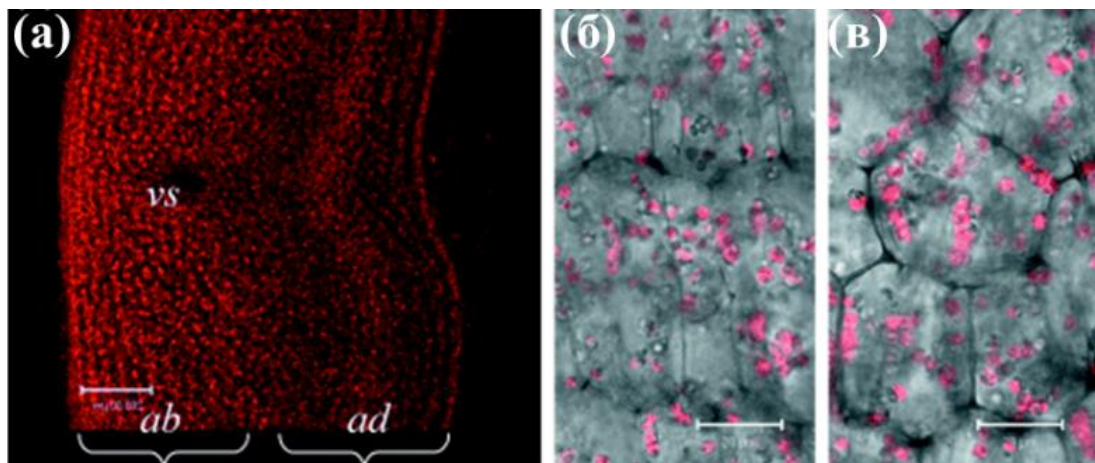
Семена не только обеспечивают эволюционную непрерывность вида, сохраняя и передавая генетический материал следующему поколению, но и производят большое разнообразие химических соединений, которые используются для развития проростков (Galili et al., 2014). При накоплении запасных питательных веществ, семена обеспечивают до 70% необходимого человеку количества калорий как напрямую, в виде пищи, так и косвенно, в качестве кормов для животных (Sreenivasulu and Wobus, 2013; Ingram et al., 2018; Mattana et al., 2022). В основе семенной продуктивности растений лежит, без сомнения, фотосинтез листьев. Фотохимические процессы, происходящие в листьях, обеспечивают формирующиеся семена необходимыми ассимилятами (Walter et al., 2021). Однако у многих видов растений для эффективного накопления запасных питательных веществ требуются также фотохимические реакции, протекающие в семенах

(Puthur et al., 2013; Смоликова и др., 2016; Smolikova et al., 2018; Sela et al., 2020; Smolikova et al., 2020).

1.3.1. Содержание фотосинтетических пигментов и превращение пластид

Присутствие хлорофиллов в зародышах покрытосеменных растений, а также покровных оболочках (плодовая и семенная) впервые было продемонстрировано в исследованиях, проводимых еще в середине XIX века (Flahault, 1879). В 1986 г. Для таких семян было предложено использовать термин *хлороэмбриофиты* (Palanisamy and Vivekanandan, 1986). М.С. Яковлев и Г.Я. Жукова в ходе своих исследований детально проанализировали содержание пигментов в зародышах зрелых семян 1094 видов, относящихся к 182 семействам покрытосеменных растений. Благодаря данной работе было установлено, что хлорофиллы присутствуют у представителей 428 видов из 72 семейств (Яковлев и Жукова, 1973; Yakovlev and Zhukova, 1980). Семена, у которых хлорофиллов не было обнаружено, называли *лейкоэмбриофитами* (Яковлев и Жукова, 1973; Yakovlev and Zhukova, 1980; Palanisamy and Vivekanandan, 1986). Биосинтез хлорофиллов начинается на глобулярной стадии эмбриогенеза, постепенно возрастает в процессе развития зародыша и прекращается при созревании семени (Borisjuk et al., 2005; Puthur et al., 2013; Smolikova et al., 2018, 2020; Shackira et al., 2022).

На рисунке 7 показана локализация хлорофиллов в семядолях сои (*Glycine max*) с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (Borisjuk et al., 2005). На поздних стадиях созревания семян происходит деградация хлорофиллов, и разрушение ультраструктуры хлоропластов, что сопровождается переходом пластид в форму геронтопластов (Smolikova et al., 2017, 2018, 2020, 2021). В созревающих семенах рапса (*Brassica napus*) содержатся Хл *a* и *b*, однако содержание хлорофиллов, а также отношение Хл *a/b* ниже, чем в листьях (Ward et al., 1994; Ruuska et al., 2004; Булда и др., 2008; Смоликова и др., 2011; Smolikova et al., 2018). При этом в зрелых семенах увеличивается количество продуктов катаболизма хлорофиллов: феофитинов *a* и *b*, феофорбида *a*, метилфеофорбида *a* и пиррофеофорбида (Ward et al., 1994).



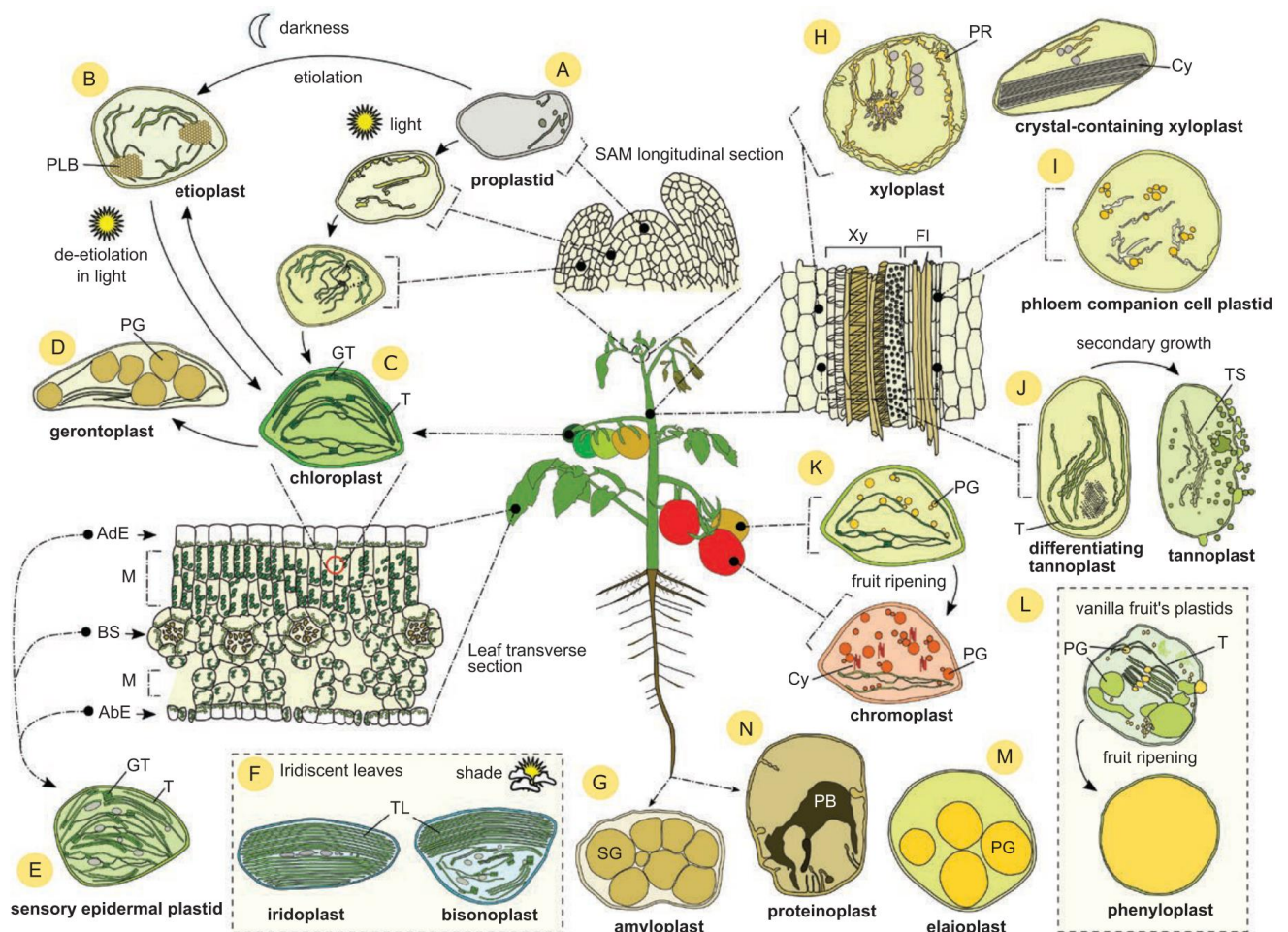
(a) – автофлуоресценция семядолей, (б) и (в) – флуоресценция в клетках абаксиальной (*ab*) и адаксиальной (*ad*) сторон; *vs* – сосудистый пучок. *Бары*: (a) – 200 μm ; (б,в) – 20 μm

Рисунок 7 — Автофлуоресценция хлорофиллов в семядолях сои (Borisjuk et al., 2005)

В семенах всегда присутствует большое количество каротинов и ксантофиллов, которые по мере созревания семян распадаются значительно медленнее, чем хлорофиллы (Смоликова и др., 2011; Смоликова и Медведев, 2014). Показано, что каротиноиды в созревающих семенах также выступают в качестве предшественников АБК, которая, как известно, является важнейшим регулятором всех основных процессов, связанных с переходом семян в состояние физиологического покоя (Смоликова и Медведев, 2014). В покоящихся семенах каротиноиды локализованы непосредственно в пластидах, где они участвуют в поддержании структурной целостности мембран пластид и защищают накапливающиеся запасные питательные вещества от свободных радикалов, образующихся при старении семян (Howitt and Pogson, 2006). Основным представителем каротиноидов семян является лютеин, который обнаруживается даже в бесцветных амилопластах пшеницы (Zandomeneghi et al., 2000; Hentschel et al., 2002; Fratianni et al., 2005; Grulichova et al., 2022). В больших количествах лютеин накапливается в семенах масличных культур (подсолнечник (*Helianthus annuus*), рапс (*Brassica napus*)) (Shewmaker et al., 1999; Lindgren et al., 2003; Булда и др., 2008). Семена кукурузы (*Zea mays*), проса (*Panicum miliaceum*), сои (*Glycine max*), вики (*Vicia sativa*), люпина (*Lupinus*) способны накапливать лютеин, зеаксантин и в меньших количествах β -каротин. Было показано, что

преобладающим каротиноидом в семенах тыквы (*Cucurbita pepo*) выступает лютеин и, в меньших количествах— α -каротин и β -каротин (Matus et al., 1993).

К основным типам пластид относятся хлоропласты, хромопласты и лейкопласты (Lopez-Juez and Pyke, 2005; Wise, 2006; Falconet, 2012; Liebers et al., 2017). Пропластиды представляют собой недифференцированные пластиды, которые могут превращаться в различные типы пластид (Рис. 8) (Liu et al., 2017; Cackett et al., 2022; Sierra et al., 2023).



(A) Пропластиды; (B) Этиопласты; (C) Хлоропласты; (D) Геронтопласты; (E) Сенсорные эпидермальные пластиды; (F) Иридопласты; (G) Амилопласты; (H) Ксилопласты; (I) Пластиды клеток-спутниц флоэмы; (J) Таннопласты; (K) Хромопласты; (L) Фенилопласты; (M) Элайопласты; (N) Протеинопласты; (PLB) Проламеллярное тело, (PG) Пластоглобулы, (GT) граны, (T) Тилакоиды, (TL) Ламеллы тилакоидов, (SG) Крахмальные зерна, (PB) Белковые тела, (Cy) Кристаллы, (TS) Танносомы; AdE — Адаксиальный эпидермис; AbE — Абаксиальный эпидермис; BS — Клетки обкладки сосудистого пучка; М — Мезофилл.

Рисунок 8 — Разнообразие пластид и их взаимопревращения в растениях (Sierra et al., 2023)

Этиопласты присутствуют в растениях, выращенных в темноте, и при воздействии света могут дифференцироваться в хлоропласты (Sierra et al., 2023). После воздействия света начинается процесс деэтиоляции, и этиопласты дифференцируются в хлоропласты, пигменты, характеризующиеся зеленой окраской, обусловленной накоплением хлорофиллов, и обилием внутренних мембран, организованных в тилакоиды и граны. Геронтопласты, обнаруживаемые в стареющих тканях, демонстрируют неправильную форму с дезорганизованными стопками гран и набухшими тилакоидами, крупными везикулами и увеличенными пластоглобулами. Эпидермальные пластиды, называемые также хлоропластами клеток покровной ткани или эпидермальными, присутствуют в эпидермисе и сосудистых тканях. Эти пластиды играют важную роль в восприятии условий окружающей среды и запуске различных стрессовых реакций и метаболического сигналинга.

Иридопласты — специализированные пластиды с организованными тилакоидными ламеллами, которые функционируют как фотонная структура для оптимизации фотосинтеза у растений, адаптированных к затенению. *Амилопласты* и *элайопласты* служат запасующими органеллами, накапливающими крахмал и масла, соответственно. *Ксилопласты*, участвующие в транспорте метаболитов и белков, присутствуют в клетках вторичной ксилемы в корнях и содержат структуру периферического ретикулума. *Пластиды клеток-спутниц флоэмы* связаны со вторичным ростом у некоторых растений. *Таннинопласты*, или танниносомы, накапливающие таннины, являются органеллами, происходящими от хлоропластов. *Хромопласты*, обнаруживаемые в плодах, семенах, цветках и клубнях, накапливают высокие уровни каротиноидов. *Фенилопласты* — специализированные пластиды, описанные в плодах ванили (*Vanilla planifolia*); они накапливают вторичные метаболиты, включая глюкозид ванилина и глюкозиды, производные фенилпропаноидов. По-видимому, они дифференцируются из хлоропластов и лишены внутренних мембран. *Элайопласты* представляют собой специализированный тип пластид, которые содержат пластоглобулы, где происходит биосинтез длинноцепочечных жирных кислот в семенах.

Протеинопласты содержат белковые тела; их можно обнаружить в различных тканях растений (Sierra et al., 2023).

В составе этиопластов, как правило, выделяют протохлорофиллид *a* и небольшое количество каротиноидов, что, собственно, и обуславливает их бледную желто-зеленую окраску (Solymosi and Schoefs, 2010). Отличительной чертой строения этиопластов является наличие упорядоченной паракристаллической решетки, которая образована проламеллярными телами. Эти трубчатые мембранные структуры выступают в качестве своеобразного резерва, обеспечивающего быстрое формирование гранальной структуры хлоропластов при освещении растения (Solymosi and Schoefs, 2010; Liebers et al., 2017). Показано, что при экспозиции на свету в течение нескольких часов проламеллярные тела трансформируются в тилакоиды, протохлорофиллы переходят в хлорофиллы и этиопласты дифференцируются в хлоропласты (Рис. 8). Пластиды, содержащие больше каротиноидов, чем хлорофиллов, называются хромопластами (Bian et al., 2011; Egea et al., 2011). Также известно, что хлоропласты могут превращаться в хромопласты в процессе созревания плодов и старения листьев, в некоторых случаях данный процесс обратим.

Основная функция геронтопластов заключается в контроле разборки фотосинтетического аппарата при старении листьев (Liebers et al., 2017). В ходе старения происходит запрограммированная реорганизация всех органелл клетки. Превращаясь в геронтопласты, хлоропласты являются последними органеллами, которые остаются в клетке, в то время как остальные органеллы уже разрушены (Merzlyak and Solovchenko, 2002). Формирование геронтопластов из хлоропластов включает значительные структурные модификации тилакоидов и образование большого количества пластоглобул, содержащих жирорастворимые продукты распада тилакоидных мембран, окружённых липидной оболочкой (Рис. 8). Оболочка пластиды при этом остается неповрежденной.

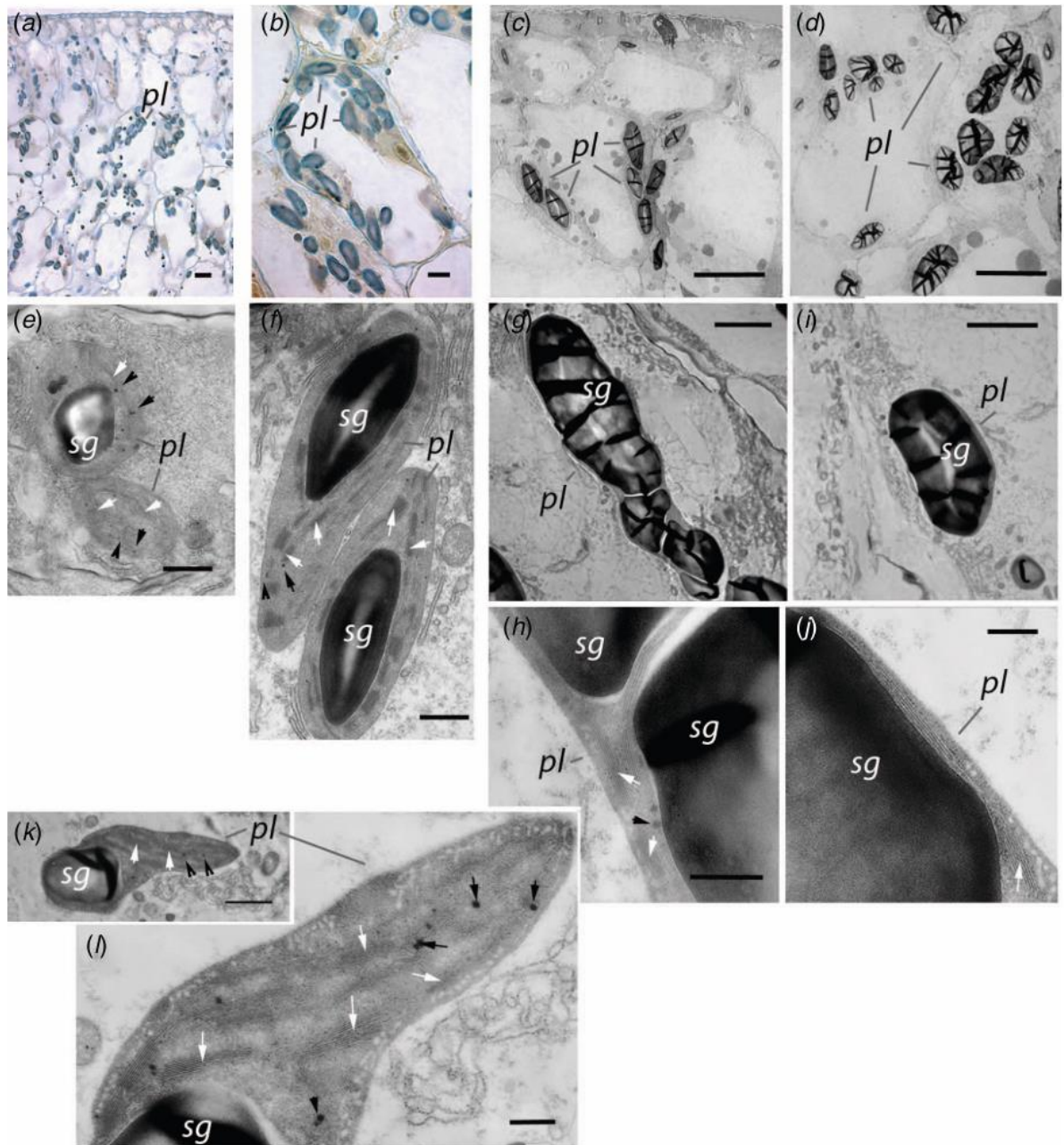
У хлороэмбриофитов уже на стадии зиготы закладываются пропластиды и амилопласты, которые в ходе эмбриогенеза последовательно преобразуются сначала в прегранальные структуры, а затем — в фотосинтетически активные

хлоропласты (Saito et al., 1989; Murphy and Cummins, 1989; Жукова, 1993; Liebers et al., 2017; Hu et al., 2018). У большинства хлороэмбриофитов формирование хлоропластов с хорошо развитой гранальной структурой в зародышах происходит на этапе перехода от стадии глобулы к сердцевидной в процессе эмбриогенеза (Asokanthan et al., 1997; Tejos et al., 2010; Смоликова и Медведев, 2015; Smolikova et al., 2020).

На рисунке 9 показана структура пластид в клетках формирующихся семядолей гороха (16 дней после опыления) (Smolikova et al., 2020). Видны хорошо сформированные тилакоидные системы, наиболее развитые в пластидах субэпидермальных клеток, при этом размер крахмальных зерен увеличивался в более глубоких слоях клеток. Показано, что начиная с глобулярной стадии развития зародыша, значительно возрастает экспрессия ядерных генов, контролирующих как световые, так и «темновые» реакции фотосинтеза (Spencer et al., 2007; Le et al., 2010; Belmonte et al., 2013; Kremnev and Strand, 2014). При этом также включаются процессы, связанные с синтезом хлорофиллов (Puthur and Saradhi, 2004; Puthur et al., 2013; Smolikova et al., 2020). На ранних этапах развития семян повышение концентрации Хл сопровождается постепенным усложнением ультраструктуры хлоропластов, что выражается в преимущественном формировании гранальной структуры (Hu et al., 2018; Smolikova et al., 2020). У сои (*Glycine max*) этот процесс продолжается примерно до 80-го дня после оплодотворения (Saito et al., 1989). После созревания семян происходит деградация хлорофилл-белковых комплексов, разрушение структуры пластид, что сопровождается резким снижением содержания хлорофиллов (Smolikova et al., 2017, 2020).

Формирование фотогетеротрофных пластид в зародышах хлороэмбриофитов запускается, по-видимому, поступлением сахарозы из материнских тканей (Johnson et al., 1997; Weber et al., 2005). В пользу этого свидетельствует тот факт, что позеленение зародышей *Vicia faba* наблюдается лишь при культивировании на среде с сахарозой; замена её на глюкозу не даёт подобного эффекта (Weber et al.,

2005). В то же время длительная экспозиция сформированных хлоропластов в условиях темноты вызывает их обратное превращение в этиопласты.



На изображениях, полученных при помощи световой микроскопии (a–d) представлена абаксиальная (нижняя) поверхность семядолей: поверхностные слои клеток (a, c) и центральные клетки паренхимы (b, d). На изображениях, полученных при помощи электронной микроскопии (e–l), представлены пластиды клеток эпидермиса (e), субэпидермальных клеток (f) и клеток паренхимы (g–l); (e–g, i, k) — общий вид пластид, (h, j, l) — фрагменты пластид. Сокращения: pl — пластида; sg — крахмальное зерно. Белые стрелки указывают на грани тилакоидов, черные стрелки — на пластоглобулы. Масштаб: (a) 0.02 мм, (b) 0.01 мм, (c, d) 20 мкм, (e, f) 1 мкм, (g, i) 5 мкм, (k) 2 мкм, (h, j, l) 500 нм

Рисунок 9 — Структура пластид в семядолях гороха (*Pisum sativum*) через 16 дней после опыления (Smolikova et al., 2020)

Лейкопласты — это бесцветные пластиды, структурно напоминающие пропластиды. Лейкопласты, в первую очередь, выполняют запасную функцию. Амилопластами называют лейкопласты, в которых крахмал служит основным запасным веществом, тогда как в протеинопластах накапливаются белки, а в элайопластах — липиды (Wise, 2006). У важнейших сельскохозяйственных культур из семейства Poaceae (пшеница (*Triticum aestivum*), рис (*Oryza sativa*), ячмень (*Hordeum vulgare*) и кукуруза (*Zea mays*)), семена которых отличаются высоким содержанием крахмала, основными запасными пластидами являются амилопласты (Yang et al., 2023). У семян масличных растений функцию специализированных запасных органелл для депонирования липидов выполняют элайопласты (Murphy, 2016). Элайопласты накапливают липиды в, так называемых, липидных каплях, которые известны также как пластоглобулы (Рис. 9).

В семенах каротиноиды, как правило, локализируются в тех же пластидах, где происходит накопление запасных питательных веществ (Bartley and Scolnik, 1995; Fernández-Marín et al., 2017). В зрелых семенах каротиноиды сосредоточены в пропластидах, амилопластах и элайопластах (Howitt and Pogson, 2006). Поскольку элайопласты способны запасать каротиноиды в больших количествах, чем амилопласты, в масличных семенах содержание каротиноидов, как правило, выше, чем в крахмалистых семенах (Shewmaker et al., 1999). В пластидах каротиноиды накапливаются внутри пластоглобул, так называемых липопротеидных структурах (Рис. 9), которые долгое время ошибочно называли осмиофильными глобулами или липидными каплями (Brehelin and Kessler, 2008; Michel et al., 2021). Во внутреннем пространстве пластоглобул пигменты более устойчивы к окислению, что крайне важно для осуществления ими антиоксидантной функции, а также для защиты триглицеридов и ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, от окислительного повреждения свободными радикалами (Merzlyak and Solovchenko, 2002). Каротиноиды, локализованные в пластоглобулах, представлены, главным образом, эфирами с жирными кислотами. Важно отметить, что этерификация не влияет на хромофорные свойства пигментов, но повышает их гидрофобность (Britton, 1993; Van Wijk and Kessler, 2017).

1.3.2. «Эмбриональный» фотосинтез и связанные с ним процессы синтеза запасных питательных веществ

Вопрос о возможной фотосинтетической активности хлоропластов, находящихся в зародышах семян, пытался решить еще М.С. Flahault в 1879 г. Им впервые было показано, что тонкие срезы зародышей фиалки (*Viola tricolor*), клена (*Acer pseudoplatanus*) и омелы (*Viscum album*) на свету способны выделять кислород. Проводимые далее исследования доказали, что органические соединения, необходимые для развития зародышей, могут поступать не только из тканей материнского растения, но и самостоятельно синтезироваться внутри семени (Pinfield et al., 1973; Palanisamy and Vivekanandan, 1986; Eastmond et al., 1996; Asokanthan et al., 1997; Ruuska et al., 2004; Puthur et al., 2013; Allorent et al., 2015; Smolikova et al., 2017; Shackira et al., 2022).

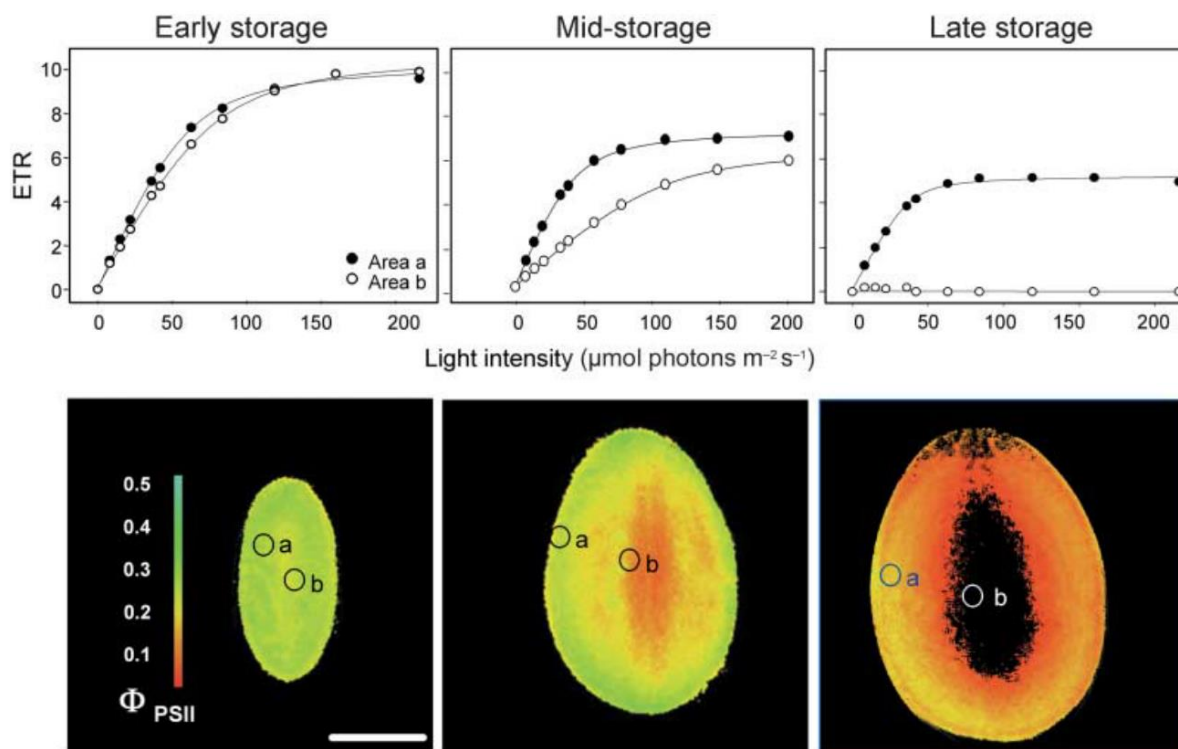
«Эмбриональный» фотосинтез, иногда называемый «фотосинтезом зеленых семян», принципиально отличается от фотосинтеза листа как по функциональной роли, так и по условиям его протекания (Shackira et al., 2022). Главное отличие состоит в источнике углерода: вместо атмосферного CO_2 используется сахароза, поступающая из материнского растения (Asokanthan et al., 1997; Ruuska et al., 2004; Смоликова и Медведев, 2015). В отличие от листьев, фотосинтетический аппарат зародыша ориентирован преимущественно на образование запасных соединений, а не моносахаридов. АТФ и НАДФ(Н), генерируемые в процессе фотохимических реакций, расходуются на превращение сахарозы, поступающей из материнского растения, в жирные кислоты, а затем в липиды, белки и крахмал (Ruuska et al., 2004; Weber et al., 2005; Allen et al., 2009). Такой тип углеродного метаболизма послужил основанием назвать хлоропласты семян *фотогетеротрофными*. При этом сахароза, по-видимому, служит одним из сигналов, которые включают механизм формирования ассимиляционного аппарата при формировании семян хлороэмбриофитов (Ruuska and Girke, 2002; Eveland and Jackson, 2012; Lastdrager et al., 2014). В недавнем обзоре было предложено называть описанный выше тип фотосинтеза как фотосинтез «зеленых семян» (green seed photosynthesis) (Shackira et al., 2022).

На ранних стадиях эмбриогенеза пропластиды зародышей дифференцируются в фотосинтетически активные хлоропласты (Saito et al., 1989; Asokanthan et al., 1997; Tejos et al., 2010). Благодаря необходимой стехиометрии в них формируются все основные фотосинтетические комплексы (ФС II, ФС I и их антенные комплексы, а также комплекс цитохромов b_6f и АТФ-синтаза) (Allorent et al., 2013, 2015; Kremnev and Strand, 2014). Этот процесс сопровождается синтезом хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов (Ward et al., 1994; Смоликова и др., 2011).

Хорошо известно, что в формировании семян важную роль играют как линейный, так и циклический потоки электронов в мембранах тилакоидов (Asokanthan et al., 1997; Allorent et al., 2015). Линейный поток необходим для образования кислорода, АТФ и НАДФН (Ruuska et al., 2004), тогда как циклический поток электронов обеспечивает синтез АТФ в ходе циклического фотофосфорилирования (Borisjuk et al., 2003; Allen et al., 2009).

Анализ активности фотохимических процессов в зародышах семян с использованием метода РАМ-флуориметрии впервые был описан в работах Borisjuk с соавторами (Borisjuk et al., 2005, 2013). На рисунке 10 показано как меняется скорость переноса электронов (ETR) в тилакоидных мембранах зародышей сои на разных этапах эмбриогенеза (Borisjuk et al., 2005). Максимальные значения ETR регистрировали на ранних стадиях формирования зародыша, но в процессе дальнейшего созревания семян фотохимическая активность снижалась. Однако следует учитывать, что из-за экранирующего действия покровных тканей проникающий к зародышу свет смещен в красную и дальнюю красную области спектра (Puthur et al., 2013; Allorent et al., 2015). В связи с этим в семенах хлороэмбриофитов (по сравнению с листьями) активность ФС I должна преобладать над активностью ФС II. Действительно, сравнительный анализ активности фотосистем, проводимый в семенах и листьях сесбании египетской (*Sesbania sesban*), показал, что активность ФС I в зародышах превышала таковую в листьях, тогда как активность ФС II практически не изменялась (Puthur et al., 2013). Аналогичные результаты были зафиксированы в созревающих семенах арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*), при этом активность ФС II оставалась

стабильной на протяжении всего периода созревания (Fait et al., 2006). В условиях затенения повышение активности ФС I сопровождается активацией циклического фотофосфорилирования и, как следствие, ускорением синтеза АТФ в формирующихся семенах.



Early, Mid- и Late Storage – стадии созревания семени (ранняя, средняя и поздняя, соответственно). *Верхняя панель*: Скорость переноса электронов (ETR, мкмоль электронов·м⁻²·с⁻¹), в абаксиальной (a) и адаксиальной (b) областях в зависимости от интенсивности света (мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹). *Нижняя панель*: Теплокарта эффективного квантового выхода ФС II при интенсивности света 63 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹. *Бары*: 3 мм

Рисунок 10 — Параметры фотохимической активности развивающегося зародыша сои
(Borisjuk et al., 2005)

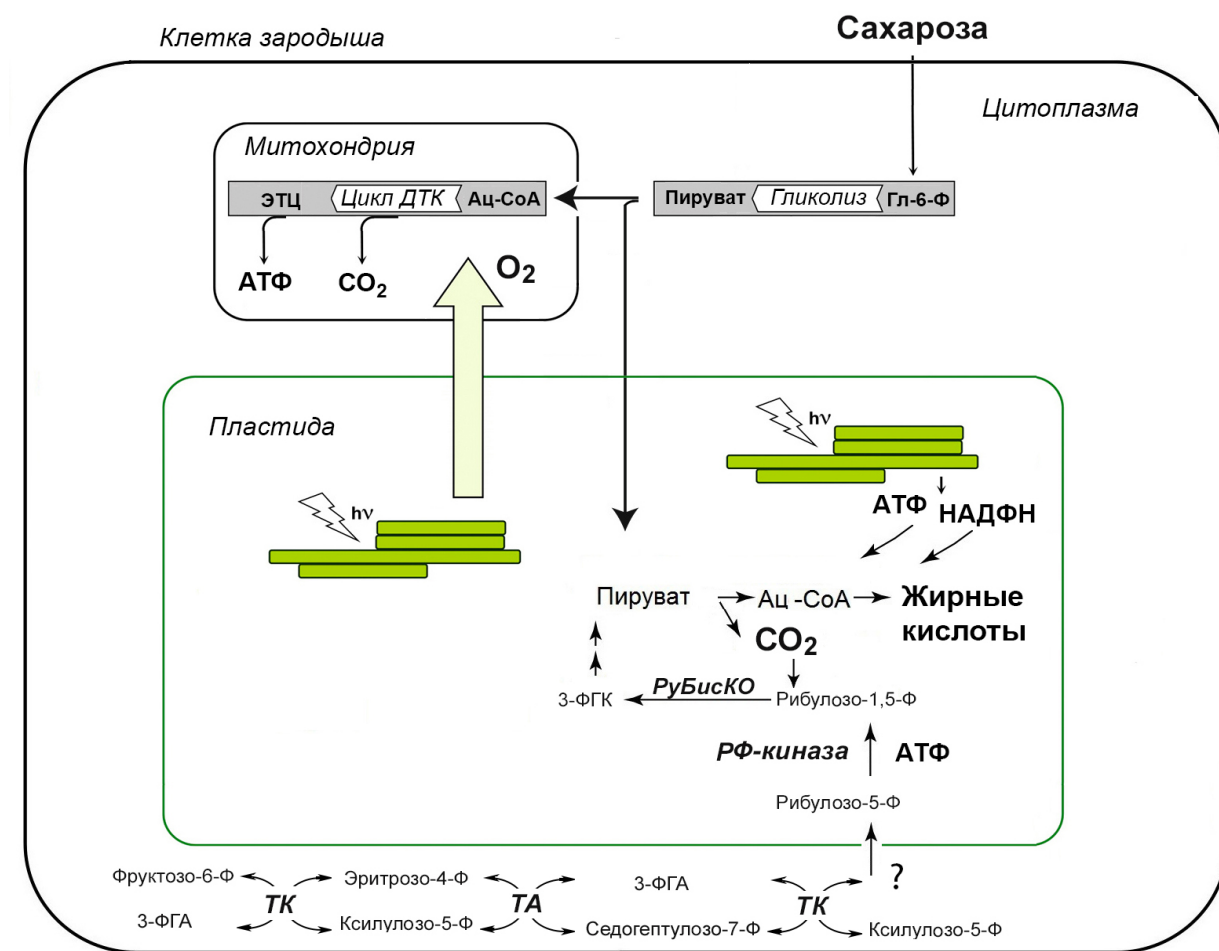
M.R.Heredia и G.Hanke (2026) разработали метод, позволяющий одновременно измерять активность ФС I и ФС II в хлоренхиме ячменя с помощью РАМ-флуориметрии. Авторы показали, что даже при достаточной интенсивности света активность фотосистем в развивающемся семени ячменя остается крайне низкой из-за ограниченной доступности акцепторов (Heredia and Hanke, 2026).

Считается, что большие количества АТФ, синтезируемые хлоропластами зародышей в ходе циклического пути транспорта электронов, необходимы для синтеза жирных кислот и аминокислот, которые используются для формирования

запасных белков. Митохондрии не могут обеспечить АТФ этот процесс из-за недостатка кислорода в развивающихся зародышах (Schwender et al., 2006). Следует особо отметить, что адаптационные механизмы к условиям затенения в листьях также сопровождаются возрастанием отношения активности ФС I к ФС II (Chow et al., 1990; Yamazaki et al., 1999). Согласно расчетам, «эмбрионального» фотосинтеза достаточно для обеспечения синтеза запасных соединений, в частности, жирных кислот, оптимальными концентрациями АТФ и НАДФН (Ruuska et al., 2004). Оценка интенсивности света, достигающего зеленых зародышей рапса, продемонстрировала, что его интенсивность ($200\text{--}400 \text{ мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) способна обеспечить синтез $\sim 360 \text{ нмоль НАДФН}$ и 240 нмоль АТФ в одном зародыше за 1 ч (Eastmond et al., 1996; King et al., 1998). Этого достаточно, чтобы зародыш рапса накапливал до 75 мг жирных кислот в сутки (Murphy and Cummins, 1989; Bao et al., 1998). При этом интенсивность фотосинтетического выделения кислорода составляет около 180 нмоль ч^{-1} .

Выделение кислорода в развивающемся семени предотвращает развитие гипоксии и поддерживает митохондриальное дыхание (Borisjuk et al., 2003; Weber et al., 2005; Borisjuk and Rolletschek, 2009; Tschiersch et al., 2011). Подводя итог вышеизложенному, «эмбриональный» фотосинтез необходим не только для накопления запасных питательных веществ, но также и для обеспечения формирующихся семян необходимым количеством кислорода. Было показано, что скорость выделения кислорода посредством фотохимических процессов семядолями бобов *Vicia faba* составляет примерно $25\text{--}40 \text{ нмоль г}^{-1} \text{ мин}^{-1}$ (Rolletschek et al., 2003, 2005). Этого количества кислорода достаточно, чтобы через 5 мин концентрация кислорода в зародыше достигла 50% от его уровня в атмосфере.

В формирующихся семенах сахара, поступающая из тканей материнского растения, гидролизуеться на две гексозы, которые гликолитическим путем превращаются в пируват, а затем в ацетил-СоА (Рис. 11).



Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат; **Ац-СоА** – ацетил-коэнзим А; **3-ФГК** – 3-фосфоглицериновая кислота; **3-ФГА** – 3-фосфоглицериновый альдегид; **ЭТЦ** – электрон-транспортная цепь; **Цикл ДТК** – цикл трикарбоновых кислот. **РФ-киназа** – рибулозо-5-фосфат киназа; **ТК** – транскетолаза; **ТА** – трансальдоза

Рисунок 11 — Схема углеродного и энергетического обмена в семенах с зеленым зародышем (модифицировано по (Smolkova et al., 2017))

Образование ацетил-СоА из пирувата сопровождается выделением CO_2 , что способно вызывать подкисление цитозоля и снижать скорость фотохимических реакций. Поэтому в семенах функционирует система ассимиляции CO_2 , о чем свидетельствует высокая активность Рубиско, катализирующей образование первичного продукта цикла Кальвина – 1,3 фосфоглицериновой кислоты (1,3-ФГК) (Ruuska and Girke, 2002; Hills, 2004; Allen et al., 2009; Hu et al., 2018).

Рубиско – это гексадекамерный белковый комплекс с молекулярной массой около 550 кДа, состоящий из восьми больших субъединиц *RbcL* (50-55 кДа) и восьми малых субъединиц *RbcS* (12-18 кДа), которые кодируются как ядерными, так и хлоропластными генами (Andersson and Backlund, 2008). Важное значение для

правильного фолдинга Рубиско имеют белки-шаперонины Сrp60, представленные субъединицами Сrp60 α и Сrp60 β (Trösch et al., 2015). Рубиско считается самым распространенным ферментом в мире, однако он не отличается высокой эффективностью, поскольку его активация может ингибироваться различными сахарофосфатами, в том числе рибулозо-1,5-бисфосфатом (RuBP), связывающимся с активным центром фермента и препятствующим карбамилированию (Bracher et al., 2017). Для удаления таких ингибиторов необходима активаза Рубиско (Rca), которая делает активный центр доступным для карбамилирования (Amaral et al., 2024). Активация Рубиско включает карбамилирование остатка лизина молекулой CO₂, после чего образовавшийся карбамат стабилизируется ионом Mg²⁺, формирующим каталитический центр (Slattery et al., 2018). Кроме того, Рубиско способна проявлять оксигеназную активность, связывая O₂ вместо CO₂, что запускает фотодыхание и снижает эффективность карбоксилирования (Amaral et al., 2024). Для инициации цикла Кальвина-Бенсона-Бэссэма также необходим фермент фосфорибулокиназа (PRK), который катализирует превращение рибулозо-5-фосфата в рибулозо-1,5-бисфосфат с использованием АТФ (Yu et al., 2020; Meloni et al., 2023; Amaral et al., 2024). Суммарная концентрация CO₂ в развивающихся семенах сои (*Glycine max*) и рапса (*Brassica napus*) достигает 12 и 40 ммоль/л соответственно, что в 600–2000 раз превышает его содержание в атмосферном воздухе или в листовой пластине (Goffman et al., 2004). Максимальный уровень CO₂ в семенах масличного рапса (*Brassica napus*), приходится на период наиболее активного синтеза масел, после чего по мере созревания концентрация снижается. При этом CO₂ может также выделяться в процессе дыхания формирующихся семян (Furbank et al., 2004; Schwender et al., 2006), тем более что, как уже отмечалось, обеспеченность семян кислородом остаётся достаточно высокой.

В семенах в процессе ассимиляции CO₂ могут участвовать не только Рубиско, но также фосфоенолпируваткарбоксилаза (ФЕПК) (King et al., 1998; Ruuska et al., 2004; Pandey et al., 2006; Allen et al., 2009). Известно, что ФЕПК, в отличие от Рубиско, использует для образования оксалоацетата из пирувата растворенный бикарбонат (HCO₃⁻), что было показано на примере формирующихся семенах рапса

(*Brassica napus*) (King et al., 1998). Ранее Ruuska с соавторами (2004) исследовали содержание и активность фермента Рубиско в семенах таких растений как рапс (*Brassica napus*) и соя (*Glycine max*) (Ruuska et al., 2004). В период максимальной фотосинтетической активности содержание Рубиско в расчёте на одно семя составило $3,2 \pm 1,3$ мг у рапса, тогда как у сои – 35 ± 4 мг. Следует отметить, что в семенах Рубиско находится в карбамоилированном на 80% состоянии, что обеспечивает (в расчёте на одно семя) связывание до $430 \text{ нмоль CO}_2 \text{ ч}^{-1}$ (Ruuska et al., 2004).

Важно отметить, что наибольшая фотосинтетическая активность семян приходится на период накопления масел, а не крахмала или белков (King et al., 1998; Ruuska et al., 2004). Т. е., фотоассимиляты, АТФ и НАДФН, образующиеся в световых и в «темновых» реакциях «эмбрионального» фотосинтеза расходуются преимущественно на синтез жирных кислот и далее триглицеридов. При этом активность ферментов, связанных с накоплением крахмала и синтезом запасных белков, достигает максимума на ранних и поздних этапах развития семян, когда фотосинтетическая активность сохраняется на низком уровне.

Помимо Рубиско, в формирующихся семенах хлороэмбриофитов присутствуют и другие ферменты, участвующие в цикле Кальвина, в частности фосфофруктокиназа (Ruuska et al., 2004). Активность этих ферментов весьма низка в молодых семенах, но значительно возрастает в процессе созревания и резко снижается на завершающих этапах (Ruuska and Girke, 2002; Simcox et al., 2007). Вероятно, для развивающихся семян достаточно лишь начальных этапов цикла Кальвина (фиксация CO_2 , образование восстановленных триоз), поскольку они обеспечивают субстратами синтез жирных кислот (Schwender et al., 2004). Именно превращение продуктов «эмбрионального» фотосинтеза в запасные соединения имеет решающее значение для формирования пищевых и посевных качеств семян.

Недавно опубликован обзор, в котором проведен анализ процесса фотодыхания в тканях зеленых семян (Carvalho et al., 2022). В семенах выявлены связанные с фотодыханием транскрипты, белки, ферменты, а также классические маркеры: гликолат, глицин и серин. Авторы считают, что фотодыхание у

зародышей может являться инструментом регуляции метаболизма при изменении содержания CO₂, O₂ и/или pH.

Sela et al. (2020) создали мутант арабидопсиса (*cpna2-4*), у которого при низкой температуре (10°C) проявлялся бледно-зеленый фенотип (Sela et al., 2020). Мутация оказалась слабой аллелью гена *CPN60α2*, кодирующего шаперонин, без которого хлоропласты не формируются нормально. У *cpna2-4* хлоропласты были мельче, но в большем количестве, чем у дикого типа, поэтому при нормальной температуре фотосинтетическая способность листьев растений не отличалась. Однако при 10°C хлоропласты не функционировали. Этот подход позволил исследователям подавить фотосинтез именно на этапе развития семян. Нулевые мутанты гена *CPN60α2* не имели функциональных хлоропластов в зародышах семян и фотохимические процессы там не происходили, а накопление запасных питательных веществ осуществлялось за счет ресурсов материнского растения. Несмотря на то, что проростки имели доступ к запасным питательным веществам, они развивались с морфологическими нарушениями (Sela et al., 2020). Этот феномен указывает на то, что функционирование, присутствующих в зародышах семян, хлоропластов критически важно для последующего нормального протекания фотоморфогенеза развивающихся проростков (Sela et al., 2020; Van Gelderen, 2020).

Таким образом, несмотря на очевидную значимость, механизмы фотохимических и связанных с ними синтетических процессов в семенах остаются недостаточно исследованными и требуют дальнейшего детального анализа.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования и условия выращивания растений

Объектами исследования являлись семена и растения гороха посевного (*Pisum sativum*) овощных сортов Прима и Глория. Сорт Прима включен в Госреестр по Центрально-Черноземному, Северо-Кавказскому и Нижневолжскому регионам. Среднеспелый, период от появления всходов до начала технической спелости плодов составляет 43–56 дней (Беседин, 2015). Сорт Глория включен в Госреестр по Центральному и Центрально-Черноземному региону. Среднеспелый, период от появления всходов до начала технической спелости плодов составляет 45–64 дней.

Растения выращивали в экспериментальной установке искусственного климата Института биоинженерии им. К.Г. Скрябина (ФИЦ Биотехнологии РАН) при температуре 22–23°C, относительной влажности воздуха 75%, фотопериод составлял 16 ч свет / 8 ч темнота. Установка включала два независимых модуля, каждый из которых был оснащен пятью индивидуальными лампами с разными комбинациями светодиодов синего, зеленого и красного спектров (Табл. 3).

Таблица 3 – Спектральный состав света и интенсивность освещения в модулях для выращивания растений

Спектральный диапазон	мкмоль фотонов·м ⁻² ·с ⁻¹	
	Модуль КС	Модуль КЗС
400-500 нм (максимум – 450 нм)	42 ± 4	44 ± 4
500-600 нм (максимум – 520 нм)	-	32 ± 3
600-700 нм (максимум – 660 нм)	165 ± 18	155 ± 17

КС – красный и синий свет, **КЗС** – красный, зеленый и синий свет

Перед закладкой вегетационного опыта семена гороха стерилизовали ультрафиолетовым излучением в течение 15 мин в асептических условиях ламинарного бокса. Далее семена раскладывали в чашки Петри на увлажненную фильтровальную бумагу, стратифицировали 24 ч при 4°C и переносили для проращивания в термостат при 22°C. Через 4–5 суток проростки высаживали в сосуды объемом 2 л, наполненные субстратом All-Mix BioBizz на основе торфа, обогащенного биогумусом. На этапе цветения в почву вносили раствор Чеснокова-Базыриной, разведенный в 10 раз (Чесноков и др., 1960). Раствор включал

следующие макроэлементы: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 , NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ и микроэлементы: H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$.

2.2. Оценка спектрального состава света и светопропускания растительных тканей

Спектральный состав источников освещения в модулях для выращивания растений оценивали при помощи спектрорадиометра UPRtek PG100N (Тайвань, Китай). Регистрировали плотность потока фотонов (PPFD) в диапазоне от 400 до 700 нм в единицах фотонов на м^2 в секунду ($\text{мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$). Светопропускание оценивали в условиях естественного освещения, разместив изолированные растительные ткани между солнечным светом и датчиком спектрорадиометра ТКА «Спектр» (Санкт-Петербург, РФ). Регистрировали интенсивность света, достигающего тканей в диапазоне от 400 до 700 нм в единицах энергии на м^2 ($\text{мВт}/\text{м}^2$).

2.3. Определение посевных качеств семян гороха

Для определения посевных качеств семена гороха проращивали между слоями увлажненной фильтровальной бумаги при $22 \pm 1^\circ\text{C}$, согласно ГОСТ 12038–84. Оценка скорости прорастания включала ежедневный подсчёт количества проросших семян. Проросшими считали семена с визуально определяемым зародышевым корнем, проклюнувшимся сквозь семенную оболочку. Время, необходимое для прорастания 10, 25 и 50% семян (T_{10} , T_{25} и T_{50} , соответственно), рассчитывали по формулам, предложенным Coolbear с соавторами (Coolbear et al., 1984): $T = t_i + [((N + 1)/2 - n_i) / (n_j - n_i)] \times (t_j - t_i)$, где N — общее количество проросших семян, t_i , t_j - дни соседних замеров (до и после 10, 25 или 50%), n_i , n_j - количество проросших семян в эти дни. Оценка всхожести включала подсчет количества нормально и ненормально развитых проростков через 8 суток после начала прорастания. Развитие проростков оценивали согласно ГОСТ 12038–84.

2.4. Спектрофотометрический метод оценки содержания хлорофиллов и каротиноидов

Семена размалывали и делали навески по 100 мг, которые помещали в пробирки типа эппендорф. В пробирки приливали 300 мкл 96 %-го, предварительно охлажденного, этилового спирта и растирали при помощи пестика. Полученный гомогенат осаждали на микроцентрифуге (MiniSpin, Eppendorf AG, Гамбург, Германия) при 11000 g, после чего супернатант переносили в новую пробирку. Описанную процедуру повторяли 3 раза до полного обесцвечивания тканей. Суммарный экстракт в пробирке доводили до 2 мл. Спектры поглощения экстрактов регистрировали на спектрофотометре Eppendorf BioSpectrometer (Eppendorf AG, Гамбург, Германия) при 470, 649, 664 и 700 нм. В качестве контрольной пробы использовали 96 %-ый этанол. Для анализа образцов использовали кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см. Для расчета использовали формулы для этанола, приведенные в работе (Lichtenthaler, 1987; Lichtenthaler and Buschmann, 2001). Содержание фотосинтетических пигментов выражали в мкг/г сух. в-ва.

2.5. Оценка фотохимической активности тканей методом РАМ-флуориметрии

Плоды отделяли от растения, вскрывали и отбирали семена требуемой стадии развития. Изолированные растительные ткани (листья, перикарпий, кожура, семядоли) заворачивали в увлажненную бумагу для предотвращения потери воды и выдерживали 15 мин в темноте (для темновой адаптации) или на свету (для световой адаптации). Активность фотохимических процессов изучали с использованием РАМ-флуориметров MINI-PAM-II/B (Heinz Walz GmbH, Германия) и FluorPen FP 110 (Photon Systems Instruments, Драшов, Чехия).

2.5.1. Медленная кинетика флуоресценции хлорофиллов

РАМ-флуориметр MINI-PAM-II/B (Heinz Walz GmbH, Германия) обладает источниками измерительного и актиничного света с максимумом эмиссии 470 нм, а также источником ДКС с максимумом эмиссии 735 нм. Детекция сигнала

осуществляется PIN-фотодиодом, защищенным фильтром типа «long-pass» ($\lambda > 650$ нм) и дихроичным фильтром. Для фиксации тканей семян использовали зажим 2010-A. Передача сигнала осуществлялась при помощи оптоволоконного кабеля MINI-PAM/F. Прибор оснащен источниками измерительного и актиничного света с интенсивностью 0,05 и 190 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹, соответственно; насыщающий импульс света равен 5000 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹ длительностью 0,6 сек. Регистрировали следующие показатели по протоколу производителя (MINI-PAM-II: Manual for Standalone Use 2018):

F_v/F_m – максимально эффективный фотохимический квантовый выход ФС II в момент, когда реакционные центры фотосистем (РЦ) не заполнены электронами и нефотохимическое рассеивание сведено к минимуму. Измеряется сразу после темновой адаптации тканей. Определяют как соотношение количества квантов, используемых в разделении зарядов, к общему количеству квантов, поглощенных светособирающими комплексами (ССК) по формуле $(F_m - F_o) / F_m$, где F_o – начальный уровень флуоресценции, F_m – максимальный уровень флуоресценции; F_v – переменная флуоресценция ($F_m - F_o$).

$Y(II)$ – эффективный квантовый выход ФС II в момент, когда РЦ частично заполнены электронами и нефотохимическое рассеивание максимально. Измеряется в адаптированном к свету состоянии по формуле $(F_m' - F_o) / F_m'$, где «'» обозначает регистрацию показателей после световой адаптации тканей.

NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. Рассчитывается по уравнению Штерна-Волмера, согласно которому тушение флуоресценции пропорционально количеству центров тушения в ССК по формуле $F_m / F_m' - 1$.

2.5.2. Быстрая кинетика флуоресценции хлорофиллов (ОЖР тест)

Показатели быстрой кинетики флуоресценции хлорофилла *a* регистрировали у при помощи ПАМ-флуориметра FluorPen FP 110 (Photon Systems Instruments, Драшов, Чехия), согласно протоколу ОЖР (Photon Systems Instruments, 2018). Прибор оснащен источниками насыщающего, актиничного и измеряющего света с максимумом эмиссии 455 нм и детекцией флуоресценции в диапазоне 667–750 нм.

После темновой адаптации, растительные ткани подвергали воздействию насыщающего импульса света интенсивностью 2400 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹. Полученные значения использовали для расчета биоэнергетических показателей фотосистемы II (ФС II) на основе формул, приведенных в протоколе производителя, и описанных в работах Strasser и соавт. (Strasser et al., 2000, 2004) (Табл. 4).

Таблица 4 — Формулы и обозначения параметров ОЖР-теста

Параметры	Формулы	Описание
PI_{ABS}	$(RC/ABS) \times (TR_0/DI_0) \times [ET_0 / (TR_0 - ET_0)]$	Индекс фотосинтетической производительности
PHI_{Po}	$1 - [(F_m - F_0) / F_m]$	Максимальный квантовый выход
ABS/RC	$M_0 \times (1 / V_j) \times (1 / Phi_{Po})$	Удельный поток поглощения света на один РЦ
DI_0/RC	$(ABS/C) - (TR_0/RC)$	Поток диссипации энергии на один РЦ
Sm	$Area / (F_m - F_0)$	Емкость пула пластохинонов, которая характеризует число многократных оборотов (multiple turn-over), требуемых для их полного восстановления

RC – реакционный центр (РЦ), ABS – поглощение (света), F_0 – минимальная интенсивность флуоресценции, F_m – максимальная интенсивность флуоресценции, V_j – относительная переменная флуоресценции в точке J кривой Каутского (через 2 мс после воздействия насыщающего импульса света), M_0 – начальный наклон кривой относительной переменной флуоресценции, $Area$ – площадь над кривой Каутского от F_0 до F_m .

2.6. Биохимический анализ зародышей зрелых семян гороха

Для оценки пищевого качества семян по содержанию белков, крахмала и масел использовали методики, опубликованные в издании (Ермаков, 1987). Оценку проводили в зародышах зрелых семян гороха, которые включают семядоли и зародышевые оси. У семян снимали кожуру при помощи скальпеля, после чего зародыши гомогенизировали и делали навески, которые высушивали до начала анализа.

2.6.1. Определение содержание белка по методу Кьельдаля

Навеску ткани (300 мг) постепенно нагревали до 420°C в течение 1,5 ч с добавлением 5 мл концентрированной серной кислоты (H₂SO₄). Для повышения температуры кипения использовали каталитические таблетки (Kjeltech, KCO₃ + CaCO₃). При окислении органических веществ происходило выделение азота в виде сульфата аммония ((NH₄)₂SO₄), из которого при добавлении 33% горячего раствора гидроксида натрия (NaOH) получали аммиак (NH₃). NH₃ перегоняли с помощью пара в приемную колбу с добавлением дистиллированной воды и борной кислоты (H₃BO₃), которую предварительно смешивали с индикаторами бромкрезоловый и метиловый красный. После отгонки дистиллят колориметрически титровали 0,1N раствором H₂SO₄ до изменения окраски. Концентрацию ионов аммония (NH₄⁺) определяли с помощью анализатора белка VELP UDK 159 (Velp Scientifica, Usmate, Италия) с использованием автоматического титрования 0,1N раствором H₂SO₄. Далее рассчитывали содержание общего белка (%) по формуле $\frac{V \cdot 1.4 \cdot K}{m} \cdot 100$, где V – объем кислоты, ушедшей на титрование, K – 6,25 (коэффициент для бобовых), m – масса навески.

2.6.2. Определение содержания крахмала по методу Эверса

Навеску ткани (300 мг) помещали в мерную колбу (100 мл), добавляли 12,5 мл 1%-ной соляной кислоты (HCl), тщательно перемешивали и доводили объем раствора до 25 мл. Колбы погружали на водяную баню, выдерживали в течение 15 мин при 100°C, перемешивая раствор при помощи шейкера, и далее охлаждали, погружая в холодную воду. После окончания процесса гидролиза в колбы добавляли по 5 мл холодной воды и 2,5 мл 10%-ной фосфорновольфрамовой кислоты (H₃[P(W₃O₁₀)₄]•xH₂O), тщательно взбалтывали, доводили объем раствора до 100 мл водой, перемешивали и осаждали в течение 30 мин. Раствор фильтровали при помощи воронки через фильтровальную бумагу. Фильтрат наливали в кюветы и определяли угол вращения плоскости поляризации на автоматическом поляриметре SAC-I (ATAGO, Япония). Содержание крахмала (%) рассчитывали по формуле

$\frac{\alpha * 50 * 100}{K * m * 1}$, где α – угол вращения плоскости поляризации, K – 174,7 (коэффициент для бобовых), m – масса навески.

2.6.3. Определение общего содержания масел

Для определения общего содержания масел использовали экстракционный метод, основанный на способности липидов растворяться в органических растворителях. Бумажные пакеты сушили 3 ч при 100°C, охлаждали в эксикаторе и взвешивали. Брали навеску ткани (300 мг), помещали в сухие бумажные пакеты, сушили 4 ч при 100°C, а затем взвешивали. Пакеты с навесками ткани заливали петролейным эфиром в таре с притертой крышкой и выдерживали в течение суток, после чего доставали, подсушивали на поддоне и располагали в экстракторе. В колбу-приемник (250 мл), расположенную в нижней части аппарата Сокслета, наливали петролейный эфир с точкой кипения 40–70°C. Включали поток воды для холодильника и нагрев Сокслета. Экстракцию проводили 2 суток до полного осветления пакетов. После этого пакеты вынимали из аппарата, подсушивали на поддоне и досушивали в сухожаровом шкафу 3–4 ч при 95–100°C. Высушенные пакеты с навесками тканей охлаждали в эксикаторе и взвешивали. Содержание масел рассчитывали по формуле: $\frac{m1 - m2}{m3} * 100$, где $m1$ – масса навески с пакетом до экстракции, $m2$ – масса навески с пакетом после экстракции, $m3$ – масса навески без пакета.

2.7. Метаболомный анализ

Для метаболомного анализа использовали зародыши зрелых семян гороха, которые включали семядоли и зародышевые оси. Зародыши замораживали в жидком азоте и затем гомогенизировали с использованием вибрационной шаровой мельницы (Retsch MM 400, Германия), не допуская размораживания ткани. Гомогенизированный растительный материал хранили при -80°C до проведения анализа. Первичные термостабильные метаболиты анализировали методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией (ГХ-МС). Первичные термолабильные метаболиты анализировали методом обращёно-фазовой

ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ОФ-УВЭЖХ-МС).

2.7.1. Анализ первичных термостабильных метаболитов методом газовой хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией (ГХ-МС)

Экстракцию термостабильных первичных метаболитов проводили последовательно с использованием полярного растворителя метанола и водно-метанольной смеси с внутренним стандартом (адонитол, 50 мкмоль/л). Навески ткани (20 ± 2 мг) перемешивали с помощью вортекса, центрифугировали и отбирали супернатант, экстракцию повторяли несколько раз. К полученному экстракту добавляли гексан для очистки образца от липофильных компонентов, перемешивали и центрифугировали. Далее отбирали аликвоту экстракта (80 мкл) и высушивали в центрифужном вакуумном испарителе Labconco CentriVar (Labconco Corporation, Миссури, США) при 4°C. Высушенные образцы последовательно дериватизировали с помощью гидрохлорида метоксиамина в пиридине (20 мг/мл), а затем инкубировали 30 мин с N-метил-N-(триметилсилил)трифторацетамида (МСТФА) при 37°C.

Анализ образцов (1 мкл) проводили с использованием газового хроматографа GC2010, соединенного в режиме реального времени с квадрупольным масс-селективным детектором Shimadzu GCMS QP2010, оснащенный инжектором жидкости CTC GC PAL (Shimadzu Deutschland GmbH, Дуйсбург, Германия) (Табл. 1П). Последовательность анализа включала в себя пробы различных типов, расположенные в следующем порядке: (1) гексан; (2) раствор C₁₀-C₄₀-алканов в гексане для калибровки и расчета индексов удерживания метаболитов; (3) N-Метил-N-(триметилсилил)трифторацетамид (МСТФА); (4) холостые пробы, содержащие только дериватизирующие реагенты; (5) холостые пробы экстракции, содержащие только адонитол и дериватизирующие агенты; (6) экспериментальные пробы в случайном порядке; (7) контроли качества, приготовленные из аликвот объединенных индивидуальных экстрактов; (8) 28 смесей из 4–6 аутентичных стандартов (по 50 мкмоль/л). Образцы контроля качества (7) анализировали после

каждой 5–6 экспериментальной пробы для контроля внутригрупповой вариабельности аналитов.

Обработка полученных данных основывалась на нецелевом подходе, при котором осуществлялась аннотация всех обнаруженных хроматографических пиков полного ионного тока (TIC). Аннотация пика осуществлялась путем сопоставления специфичных для характеристики максимумов времени удерживания (t_R) минимум трех характерных хроматограмм извлеченных ионов (XICs, $m/z \pm 0,5$ Да) с отношением сигнал/шум (S/N) ≥ 3 . Аннотацию пика проводили с использованием автоматизированной системы масс-спектральной деконволюции и идентификации (AMDIS, версия 2.66 (08.08.2008) и Xcalibur, версия 3.0.63 (05.08.2013) (ThermoFisher Scientific Inc., Бремен, Германия). Индексы времени удерживания Ковача (RIs) рассчитывали по времени удерживания стандартов алканов C_{10} – C_{40} (Табл. 2П). Идентификация аналитов была основана на поиске и сравнении полученных масс-спектров, t_R , и RIs со стандартными веществами масс-спектрометрических библиотек NIST 08 (National Institute of Standards and Technology, <https://webbook.nist.gov/chemistry>) и GDM (Golm Metabolome Database, <http://gmd.mpimp-golm.mpg.de>), анализируемыми одновременно с экспериментальными пробами. Количественная оценка проводилась путём интегрирования соответствующих хроматограмм экстрагированных ионов (XICs, $m/z \pm 0,5$ Да) при определённом времени удерживания (t_R).

2.7.2. Анализ первичных термолабильных метаболитов методом обращённо-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ОФ-УВЭЖХ-МС)

В пробирки из полипропилена с завинчивающимися крышками (2 мл) добавляли навеску замороженного гомогенизированного материала (100 ± 5 мг), а также охлажденные до -80°C металлические шарики из нержавеющей стали (3 шарика диаметром 3 мм и 1 шарик диаметром 5 мм) и стеклянные шарики (200 мг, диаметром 0,75–1 мм). Метаболиты экстрагировали в 900 мкл ледяной смеси

дихлорметана/этанола (2:1), в которую добавляли 100 мкл охлаждённого водного раствора соляной кислоты ($\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$, 1:200). Пробирки устанавливали в охлажденные фторопластовые штативы, которые закрепляли в держателях вибрационной шаровой мельницы (FastPrep-24TM, MP Biomedicals, Эшвеге, Германия) и дополнительно гомогенизировали 3 раза по 20 сек со скоростью вибрации 25 м/с. После гомогенизации пробирки центрифугировали 5 мин при 4°C и 12000 g. Далее верхнюю фазу супернатанта (~300 мкл) переносили в новые охлажденные микропробирки из полипропилена с закручивающимися крышками (1,5 мл) и проводили экстракцию повторно. Остаток растительного материала ресуспендировали в дополнительной порции 50 мкл ледяного раствора соляной кислоты ($\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}$, 1:200), перемешивали с помощью вортекса и центрифугировали по вышеописанному протоколу. Далее снова отбирали полярную фракцию супернатанта (~120 мкл) и объединяли с предыдущей порцией экстракта. Объединенные экстракты дополнительно центрифугировали 10 мин при 4°C и 10000 g, фильтровали раствор через мембрану из поливинилиденфторида с размером пор 0,2 мкл и центрифугировали 10 мин при 1000 об./мин и 4°C. Фильтрат (не менее 150 мкл) переносили во вкладыши хроматографических флаконов, выполненных из стекла, которые закрывали пластиковыми крышками с мембраной.

Аликвоты экстрактов (5 мкл) анализировали с помощью системы Waters ACQUITY H-Class UPLC (Waters GmbH, Эшборн, Германия), соединенной в режиме реального времени с системой AB Sciex QTRAP 6500 MS/MS (AB Sciex, Дармштадт, Германия) с ионизацией в электроспрее (ESI) и сочетающим масс-анализаторы квадруполь и линейную ионную ловушку (QqLIT) (Табл. 3П). Пробы анализировали в следующем порядке: (1) экспериментальные образцы в случайном порядке; (2) образцы контроля качества (QC); (3) образцы многокомпонентных стандартных растворов; (4) холостые пробы экстракции. Регистрацию данных УВЭЖХ-МС осуществляли в режиме мониторинга множественных реакций (MRM, Multiple reaction monitoring) на основе характерных комбинаций массовых диапазонов Q1 и Q3 (MRM-переходов) 157 индивидуальных аутентичных

стандартов, представляющих целевые соединения. Для количественного анализа извлеченные MRM-хроматограммы интегрировали при заданных значениях t_{RS} с помощью программного обеспечения MultiQuan™ (версия 3.0.2, AB Sciex, Дармштадт, Германия).

Для подтверждения качества аннотации данных экспериментальные и контрольные пробы были проанализированы с помощью метода главных компонент (МГК). Графики, построенные для контрольных проб в координатах двух первых главных компонент, показали относительно низкую внутригрупповую вариабельность.

2.8. Оценка относительного уровня транскрипции генов

Плоды собирали с растений гороха на средней стадии созревания семян и изолировали перикарпий, кожуру и семядоли. Растительные ткани быстро замораживали в жидком азоте и хранили до анализа в морозильнике при -80°C . Перед проведением анализа образцы тщательно растирали пестиком в предварительно охлажденной фарфоровой ступке в жидком азоте.

2.8.1. Выделение РНК

Тотальную РНК экстрагировали из 100 мг растительной ткани с использованием набора ExtractRNA (Евроген, Москва, Россия), согласно протоколу производителя (<https://evrogen.ru/support/technologies/rna-isolation>). На первом этапе выделения проводили лизис клеток с помощью ExtractRNA (1 мл), инкубировали в течение 10 мин и центрифугировали 10 мин при 11000 g. Супернатант переносили в чистую, свободную от РНКаз, пробирку, добавляли 200 мкл трихлорэтилена (C_2HCl_3), аккуратно перемешивали встряхиванием и центрифугировали 10 мин при 11000 g. Отбирали верхнюю водную фазу (~500 мкл) в чистую пробирку, добавляли 500 мкл трихлорэтилена, перемешивали и центрифугировали 5 мин при 11000 g. Снова отбирали верхнюю водную фазу (~500 мкл), переносили в новую пробирку, добавляли 500 мкл 100 %-ного изопропанола для осаждения РНК, перемешивали и центрифугировали 10 мин при 11000 g. Затем тщательно отбирали супернатант, не задевая осадок РНК на дне пробирки. К осадку

аккуратно добавляли 1 мл 80 %-го этанола, центрифугировали пробирки 5 мин при 11000 g и повторно промывали осадок 80 %-ным этанолом. Затем отбирали этанол и сушили осадок при комнатной температуре 5-7 мин. Осадок растворяли в стерильной воде, обработанной диэтилпиروкарбонатом (DEPC) (BionnLabs, Ростов-на-Дону, Россия). Концентрацию РНК измеряли на спектрофотометре (Eppendorf BioSpectrometer, Eppendorf AG, Гамбург, Германия).

2.8.2. Обратная транскрипция

Обратную транскрипцию для синтеза первой цепи кДНК проводили с использованием праймера Oligo(dT) и набора MMLV RT по протоколу производителя (Евроген, Москва, Россия). Для обратной транскрипции брали 500 нг РНК. Делали два контроля: NRT (без ревертазы) и NTC (без РНК), которые использовали при проведении ПЦР в режиме реального времени с целью контроля контаминации образцов примесью геномной ДНК и для контроля контаминации реакционной смеси, соответственно. Обратную транскрипцию проводили в два этапа. На первом этапе в пробирках смешивали РНК, Oligo(dT) праймер и доводили объем смеси до 11 мкл DEPC-обработанной стерильной водой. Прогревали смесь 2 мин при 70°C и по истечении срока инкубации переносили образцы в лед. Далее добавляли 9 мкл предварительно подготовленной смеси, содержащей буфер для обратной транскрипции (5x First standart buffer), дезоксинуклеозидтрифосфаты (dNTPs), дитиотреитол (DTT), обратную транскриптазу (MMLV Reverse Transcriptase). Затем образцы перемешивали пипетированием, сбрасывали капли и проводили инкубацию с помощью амплификатора BIO-RAD T100 Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., Геркулес, Калифорния, США) 60 мин при 37°C и 10 мин при 70°C. После инкубации образцы охлаждали и хранили при -20°C.

2.8.3. Количественная ПЦР в режиме реального времени

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени проводили в системе детекции ПЦР в CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Геркулес, Калифорния, США). Каждый образец реакционной смеси содержал 12,5 нг кДНК, генно-специфичные праймеры и смесь SYBR Green RTqPCR (Евроген, Москва,

Россия). Реакцию проводили при следующих условиях: начальная денатурация при 95°C в течение 3 мин, 45 циклов денатурации при 95°C в течение 15 сек, отжиг и элонгация при 60°C/65°C в течение 60 сек. Все пары праймеров были разработаны с использованием базы данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI) и произведены компанией «Евроген» (Москва, Россия) (Табл.5).

Таблица 5 — Праймеры, использованные в работе

Название гена	Последовательность
<i>Cpn60α</i>	5'–AATGTCGCTGCCATCAAAGC–3' 5'–TGGAACCTCAGCACCTGTCAA–3'
<i>Cpn60β</i>	5'–TGCCATCCTAACAGGAGGTACT–3' 5'–ATATTCTTGCTCTGCGGCCT–3'
<i>RCA</i>	5'–CCAAGATGGGAATCAACCCCATTA–3' 5'–ATGTCAGCAGCTTCACGGTA–3'
<i>PRK</i>	5'–CTGGTCTTTTGGATGCTCCTGA–3' 5'–ACGTTCTGCCATGTCTCTCTGA–3'
<i>PP2a</i>	5'–CCACATTACCTGTATCGGATGACA–3' 5'–GAGCCCAGAACAGGAGCTAACA–3'

Относительные уровни транскрипции генов рассчитывали с помощью сравнительного метода $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (Livak and Schmittgen, 2001). Ген регуляторной субъединицы А протеинфосфатазы PP2A (GenBank Z25888) использовали в качестве референсного контроля для нормализации данных (Knopkiewicz and Wojtaszek, 2019).

2.9. Статистическая обработка данных и программное обеспечение

Все измерения проводили, как минимум, в 3 биологических повторностях. Статистическую обработку данных осуществляли в MS Microsoft Excel с использованием надстройки «Пакет анализа», которая включала функции Visual Basic для статистического анализа данных. На графиках и в таблицах представлены средние арифметические значения величин, их стандартные отклонения или ошибка среднего арифметического. Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного *t*-теста для средних ($\alpha = 0,05, \leq 0,05$).

Все количественные параметры флуоресценции и связанные с ней расчетные показатели фотохимической активности тканей вычисляли по встроенным программам в соответствии с инструкциями производителей.

Данные метаболомного исследования обрабатывали с использованием онлайн-платформы MetaboAnalyst 6.0 (www.metaboanalyst.ca). Количественные данные комбинированных метаболомных анализов анализировали с использованием метода главных компонент (МГК). Результаты одномерной статистики были представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (SD) пяти биологических повторностей. Кратность изменений в содержании отдельных метаболитов и достоверность различий (p -значение) между сравниваемыми группами оценивали с помощью t -критерия Стьюдента. Для оценки достоверности кратности изменений относительного содержания отдельных метаболитов для всех сравнений оценивали частоту ложных срабатываний при $p \leq 0,05$ с помощью метода Бенджамини–Хохберга.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Влияние светопроницаемости покровных тканей на фотохимическую активность формирующихся плодов гороха

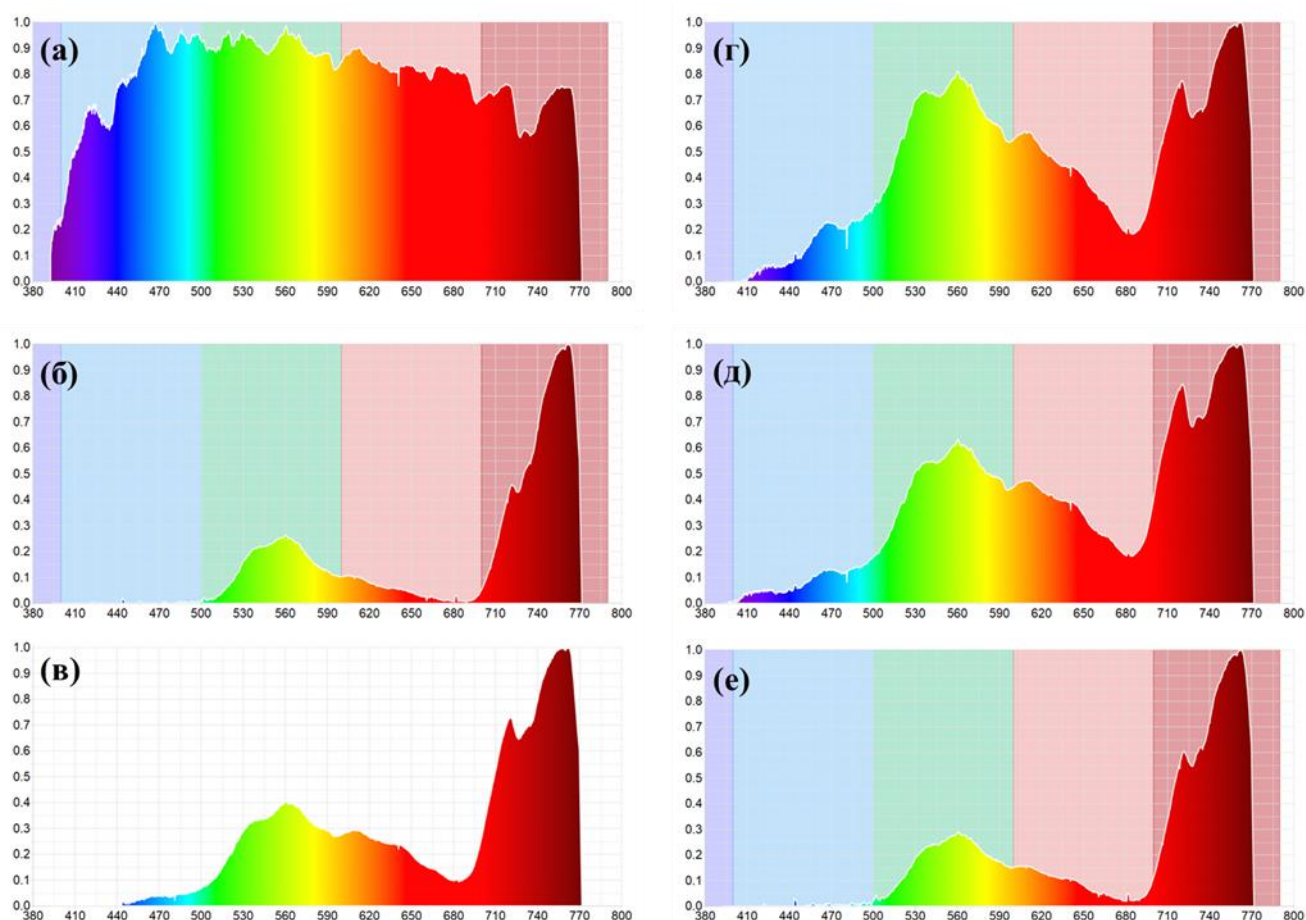
3.1.1. Динамика светопроницаемости покровных тканей

Зародыши семян гороха покрыты семенной оболочкой (кожурой) и плодовой оболочкой (перикарпием), которые снижают интенсивность солнечной радиации и меняют ее спектральный состав. На первом этапе работы была поставлена задача оценить светопропускание перикарпия, кожуры и семядолей на средней стадии созревания семян, которая характеризуется присутствием хлорофиллов, функционально активных хлоропластов и фотохимической активностью (Smolikova et al., 2018, 2020). Эксперименты проводили на растениях гороха сорта Прима, который выращивали в условиях открытого грунта. Сравнительную оценку светопроницаемости проводили у фотосинтезирующих зеленых листьев, стареющих желтых листьев, перикарпия, семенной кожуры, а также их комбинации (перикарпий + кожура) (Рис. 12). В качестве контроля при количественных расчетах светопропускания использовали солнечную радиацию, которую измеряли при помощи спектрорадиометра ТКА «Спектр» (СПб) в диапазоне 390–760 нм (Рис. 12а).

Активно фотосинтезирующие зеленые листья гороха практически полностью поглощали синее и красное излучение в областях спектра, соответствующих пикам поглощения хлорофиллов и каротиноидов (Рис. 12б). При этом ткани листьев оставались частично проницаемыми для зеленого и желтого света и практически полностью проницаемыми для дальнего красного света (Рис. 12б). В процессе старения в листьях происходила деградация хлорофиллов, что в результате приводило к увеличению количества синего и красного света, проходящего сквозь листовую пластину (Рис. 12в).

Для перикарпия и кожуры по отдельности было обнаружено значительно более высокое светопропускание в синей и красной областях спектра, по сравнению с листьями (Рис. 12г,д). Но в случае, когда перикарпий и кожуру

складывали вместе наблюдался эффект подавления светопропускания в фотохимически активных диапазонах. В результате спектральный состав ФАР, достигающей семян через покровные ткани смещался в диапазон 500–650 нм и 700–770 нм, а вклад солнечного излучения в области 400–500 нм и 650–700 нм был крайне низким (Рис. 12е).



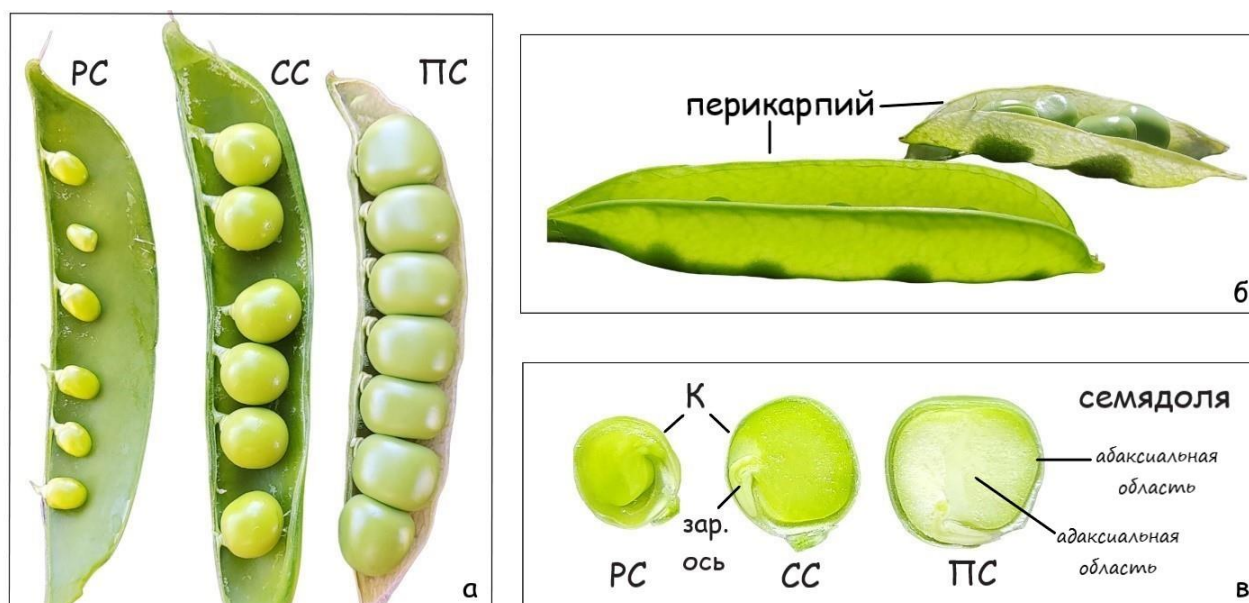
(а) – спектр солнечного света в диапазоне 390–760 нм, (б) – зеленый лист гороха, (в) – стареющий лист гороха, (г) – перикарпий, (д) – кожура, (е) – перикарпий и кожура вместе.

Ось X – спектральный диапазон (нм). Ось Y – интенсивность освещения (отн. ед.)

Рисунок 12 — Светопропускание тканей растений гороха на средней стадии созревания семян

Далее была проведена оценка динамики светопропускания растительных тканей при созревании семян гороха. На рисунке 13 можно видеть степень развития семян на ранней, средней и начале поздней стадии созревания, когда начинается постепенный процесс деградации хлорофиллов, сопровождающийся снижением интенсивности зеленой окраски (Рис. 13а). Хорошо видна высокая

светопроницаемость (прозрачность) перикарпия (Рис. 13б). Также показана степень развития семядолей (Рис. 13в).

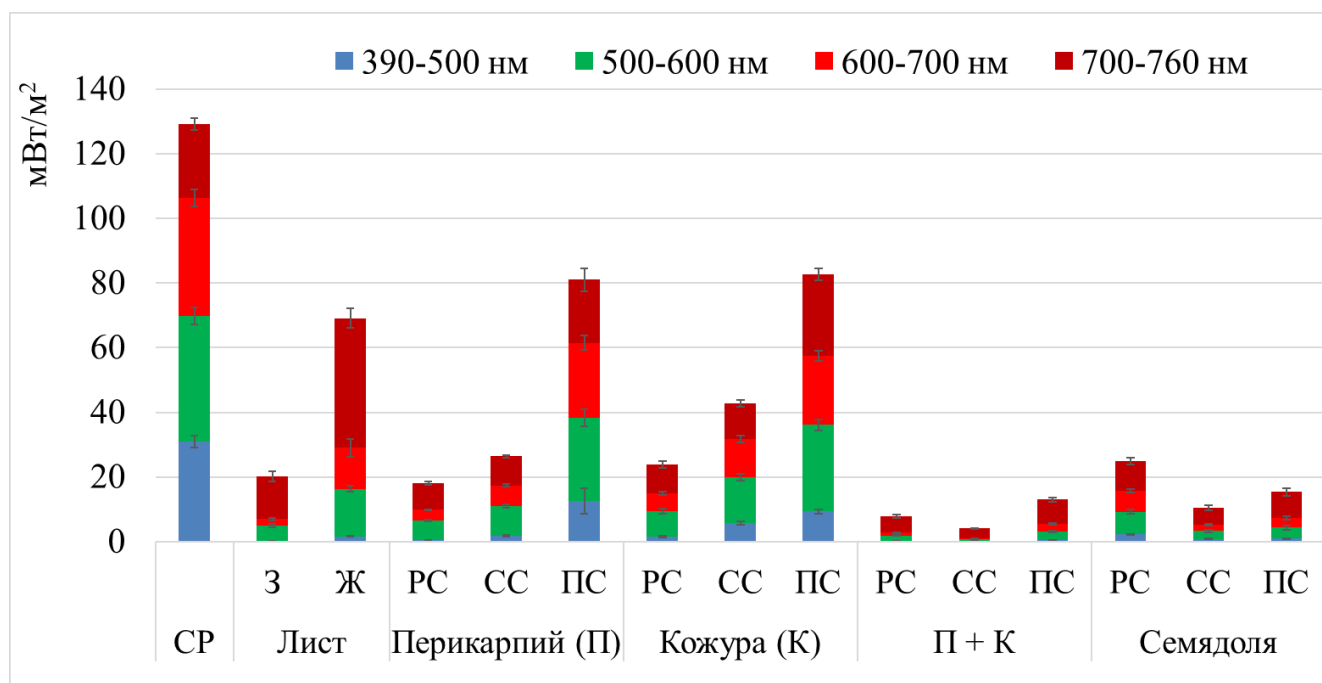


(а) плоды с семенами; (б) плоды с семенами на средней стадии созревания (видна высокая светопроницаемость тканей перикарпия); (в) продольный разрез семян (к – кожура, зар. ось – зародышевая ось)

Рисунок 13 — Морфология плодов и семян гороха на ранней (РС), средней (СС) и поздней (ПС) стадиях созревания

Энергию светового потока (энергетическую освещенность) регистрировали в диапазоне 390–500, 500–600, 600–700 и 700–760 нм и выражали в мВт/м². На рисунке 14 можно видеть, что интенсивность солнечной радиации (СР), достигающей листьев и поверхности плодов (перикарпия), в среднем составляла 136 мВт/м². При этом на долю синего и красного света приходилось 32 и 39 мВт/м², соответственно. При расчете количества света, проходящего сквозь растительные ткани, эти показатели принимали за 100%

Установлено, что сквозь зеленый лист гороха проходило лишь 15% от СР (20 мВт/м²) (Рис. 14). При этом синий свет полностью задерживался, а интенсивность красного света не превышала 2 мВт/м² (5% от СР). Стареющий желтый лист пропускал около 69 мВт/м², что составляло 51% от СР. При этом доля синего света возрастала до 5% от СР (1,7 мВт/м²), а красного – до 32% от СР (12,7 мВт/м²).



Синие, зеленые, красные и темно-красные столбики показывают энергию светового потока (мВт/м^2) в спектральном диапазоне 390–500 нм, 500–600 нм, 600–700 нм и 700–760 нм, соответственно. СР – солнечная радиация. Данные представлены как среднее арифметическое и его стандартное отклонение, полученные в 3 биологических повторностях.

Рисунок 14 — Светопропускание растительных тканей на ранней (РС), средней (СС) и поздней (ПС) стадии созревания семян гороха сорта Прима

На ранней стадии созревания семян энергия светового потока, проходящего сквозь перикарпий, была равна 18 мВт/м^2 (13% от СР), что сопоставимо с показателями зеленого фотосинтезирующего листа. Однако доля проходящего синего и красного света увеличивалась до $0,5 \text{ мВт/м}^2$ (1,5% от СР) и $3,5 \text{ мВт/м}^2$ (8,9% от СР), соответственно. К средней стадии созревания семян светопроницаемость перикарпия возрастала до 26 мВт/м^2 (19% от СР), а интенсивность синего и красного света увеличивалась до $1,8 \text{ мВт/м}^2$ (5,6% от СР) и $6,4 \text{ мВт/м}^2$ (16,4% от СР), соответственно. На поздней стадии созревания семян светопропускание перикарпия достигало 81 мВт/м^2 (60% от СР), а доля синего и красного света возрастала до $12,6 \text{ мВт/м}^2$ (39% от СР) и $23,1 \text{ мВт/м}^2$ (59% от СР) соответственно.

Энергия светового потока, проходящего сквозь кожуру, увеличивалась по мере созревания семян с 24 мВт/м^2 (18% от СР) на ранней стадии созревания семян до 83 мВт/м^2 (61% от СР) на поздней стадии созревания семян. При этом доля

синего света возрастала с 1,5 (4,6% от СР) до 9,4 мВт/м² (24,1% от СР), а доля красного изменялась с 5,7 мВт/м² (17,8% от СР) до 21,4 мВт/м² (54,8% от СР).

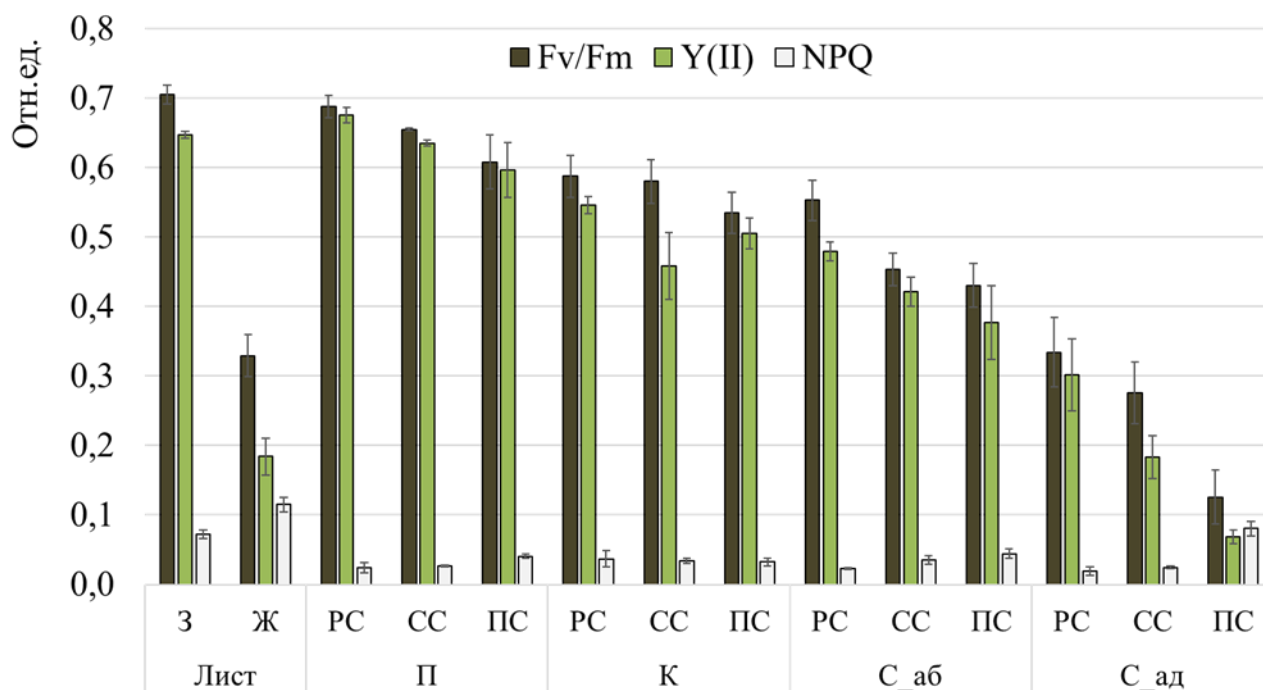
Вариант П+К (перикарпий + кожура) демонстрирует количество и спектральный состав света, который достигает семядолей после прохождения через плодовую и семенную оболочки, сложенные вместе. На ранней и средней стадиях созревания семян, которые характеризуются высокой фотохимической активностью плодов, энергия проходящего светового потока не превышала 8 мВт/м² (6% от СР), при этом синий свет полностью отсутствовал, а красный регистрировался в количестве менее 1 мВт/м² (менее 2% от СР). Затем, при достижении поздней стадии созревания, эти показатели постепенно увеличивались, что было связано с деградацией хлорофиллов в перикарпии и кожуре.

Интересно отметить, что семядоли также оказались проницаемыми для солнечного света. На ранней стадии созревания их светопропускание от абаксиальной к адаксиальной стороне составляло 25 мВт/м² (18% от СР), что сопоставимо с показателями перикарпия и семенной кожуры. Однако спектральный состав проходящего света отличался: доля синего света достигала 2,2 мВт/м² (6,9% от СР), красного — 6,4 мВт/м² (16,4% от СР) (Рис. 14). По мере созревания семян, энергия проходящего светового потока снижалась до 10–15 мВт/м² (8–10% от СР), что может быть связано с накоплением в семядолях запасных питательных веществ, которые уплотняли ткани и уменьшали их светопропускание.

3.1.2. Динамика фотохимической активности перикарпия, кожуры и семядолей

На следующем этапе работы была изучена динамика фотохимической активности покровных тканей плодов (перикарпия), семян (кожуры) и семядолей гороха. Эксперименты проводили на тех же тканях и тех же стадиях онтогенеза, на которых оценивали динамику светопропускания. Измерения проводили с использованием РАМ-флуориметра Walz MINI-PAM-II/B (Heinz Walz GmbH, Германия). Оценивали показатели F_v/F_m и $Y(II)$, которые характеризуют

максимальный и эффективный квантовые выходы ФС II, соответственно, а также показатель NPQ , который связан с нефотохимическим тушением флуоресценции Хл a (Рис. 15).



$C_{аб}$ – абаксиальная область семядолей (снаружи); $C_{ад}$ – адаксиальная область семядолей (внутри). Fv/Fm и $Y(II)$ – максимальный и эффективный квантовые выходы ФС II, соответственно; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофиллов. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего, полученные в 3 биологических повторностях. Двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) выявил достоверные различия по двум главным факторам (фотохимическая активность и тип ткани), а также их взаимодействию ($p < 0,001$).

Рисунок 15 — Фотохимическая активность в листьях, перикарпиях (П), коже (К) и семядолях (С) на ранней (Р), средней (С) и поздней (П) стадии созревания семян гороха сорта Прима

Зеленые листья гороха характеризовались высокими показателями фотохимической активности. Максимальный квантовый выход (Fv/Fm), который измеряли после темновой адаптации тканей, был равен $0,71 \pm 0,01$, а эффективный квантовый выход ($Y(II)$), который измеряли после световой адаптации, снижался до $0,65 \pm 0,01$. Старение листьев сопровождается их пожелтением, связанным с разрушением хлорофиллов. Это приводило к снижению показателя Fv/Fm до $0,33 \pm 0,03$, а $Y(II)$ – до $0,18 \pm 0,03$. Показатель NPQ при этом увеличивался от $0,07 \pm 0,01$ до $0,12 \pm 0,01$.

Фотохимическая активность перикарпия на ранней стадии созревания семян была примерно на уровне показателей зеленого листа: Fv/Fm и $Y(II)$ составляли $0,69 \pm 0,02$ и $0,68 \pm 0,01$, соответственно. К средней стадии созревания семян значения этих показателей снижались до $0,65 \pm 0,01$ для Fv/Fm и до $0,64 \pm 0,01$ для $Y(II)$. Более существенное падение фотохимической активности происходило на поздней стадии созревания семян: Fv/Fm составлял $0,61 \pm 0,04$, а $Y(II)$ – $0,60 \pm 0,04$. Это сопровождалось повышением NPQ от $0,02 \pm 0,01$ до $0,04 \pm 0,01$.

У кожуры фотохимическая активность была ниже. Это связано с тем, что в плодах кожура находится под перикарпием и функционирует при меньшей интенсивности света. Fv/Fm и $Y(II)$ кожуры на ранней стадии созревания семян были равны $0,59 \pm 0,03$ и $0,55 \pm 0,02$, соответственно. К поздней стадии созревания семян эти показатели снижались до $0,54 \pm 0,03$ и $0,51 \pm 0,02$, соответственно. Показатель NPQ при этом практически не менялся и составлял в среднем $0,03$.

Фотохимическую активность семядолей оценивали как снаружи (абаксиальная область), так и внутри (адаксиальная область). На ранней стадии созревания значения Fv/Fm составляли $0,55 \pm 0,03$ в абаксиальной области и $0,33 \pm 0,05$ в адаксиальной области семядолей. К поздней стадии этот показатель снижался до $0,43 \pm 0,03$ и $0,13 \pm 0,04$ в абаксиальной и адаксиальной областях семядолей, соответственно. Аналогичная тенденция была отмечена и для $Y(II)$. Его показатели в абаксиальной области падали с $0,47 \pm 0,01$ до $0,37 \pm 0,05$ от ранней к поздней стадии созревания семян, а в адаксиальной области – с $0,30 \pm 0,05$ до $0,06 \pm 0,01$ соответственно. При этом NPQ увеличивался в абаксиальной области с $0,02 \pm 0,001$ до $0,04 \pm 0,007$, а в адаксиальной области – с $0,02 \pm 0,007$ до $0,08 \pm 0,01$.

Таким образом, несмотря на низкую интенсивность светового потока из-за экранирования покровными тканями, как в кожуре, так и в тканях семядолей, мы наблюдали фотохимические процессы, эффективность которых понижалась по мере уменьшения количества проникающего света. Важно отметить, что в семядолях фотохимическая активность регистрировалась в условиях практически полного отсутствия синего света, незначительного присутствия красного и относительно высокого содержания зеленого света.

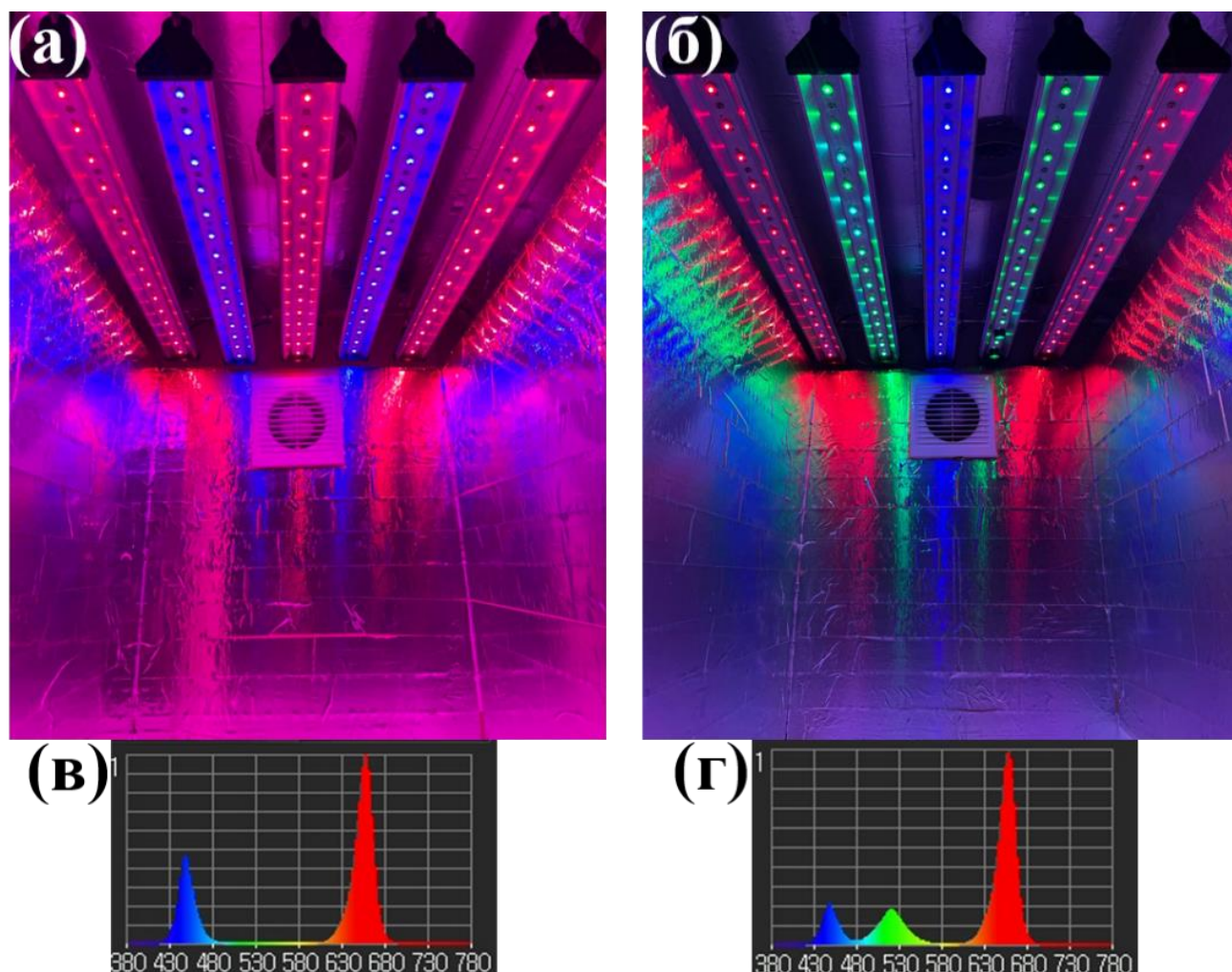
3.2. Влияние зеленого света на фотосинтетическую активность формирующихся плодов гороха

Анализ светопропускания покровных тканей плодов гороха позволил определить спектральные характеристики света, при которых происходят фотохимические реакции в формирующихся семенах. Было показано, что к семядолям поступает ФАР преимущественно в желтой и зеленой областях солнечного спектра на фоне полного отсутствия синего и низкой интенсивности красного света. Т.е., наиболее важные для фотосинтеза красные и синие фотоны в значительной степени поглощаются окружающими семядоли тканями перикарпия и кожуры. Полученные результаты послужили основой для постановки задачи по исследованию роли зеленого света в обеспечении семян энергией, необходимой для осуществления фотохимических процессов.

Для решения этой задачи была создана установка, каждый модуль которой имел независимое освещение, создаваемое комбинацией из пяти светодиодных светильников. Для равномерного распределения светового потока стенки модулей были покрыты светоотражающим материалом. Интенсивность и спектральный состав света в модулях показаны в таблице 3 (Глава 2. Материалы и методы). На установку был получен патент № 220784 от 12 июля 2023 г.

В экспериментах использовали модуль, оборудованный красными и синими светодиодами (модуль КС) и красными, зелеными и синими светодиодами (модуль КЗС) (Рис. 16). Объектом исследования являлся горох сорта Глория.

На начальном этапе были оценены сроки наступления генеративного периода онтогенеза растений гороха при их выращивании в модулях КС и КЗС (Табл. 6). Фенологический анализ не показал различий по началу фаз бутонизации и формирования бобов. Однако было выявлено, что у растений, которые выращивали в модуле КЗС (при добавлении зеленого света к красному и синему), процесс созревания семян наступал быстрее.



(а) внешний вид модуля КС, оснащенного красными и синими светодиодами;
 (б) внешний вид модуля КЗС, оснащенного красными, зелеными и синими светодиодами;
 (в) спектр освещения модуля КС; (г) спектр освещения модуля КЗС.

Рисунок 16 — Модульная установка для выращивания растений

Таблица 6 — Сроки наступления фаз развития растений гороха, связанные с генеративным периодом онтогенеза

Фазы развития растений	Сутки после появления всходов	
	модуль КС	модуль КЗС
Начало бутонизации	$31 \pm 2,1$	$33 \pm 1,7$
Начало формирования плодов	$37 \pm 2,0$	$37 \pm 2,1$
Начало созревания семян	$61 \pm 4,5$	$57 \pm 2,4^{**}$

КС – красный и синий свет; КЗС – красный, зеленый и синий свет. Приведены средние арифметические значения и ошибка среднего по 4-м независимым экспериментам ($n = 3$). Отмечены значимые различия между вариантами ($**p \leq 0,01$)

Далее методология проведения исследований основывалась на сравнении физиолого-биохимических параметров растений гороха, формирующихся в модулях КС и КЗС, и включала следующие этапы:

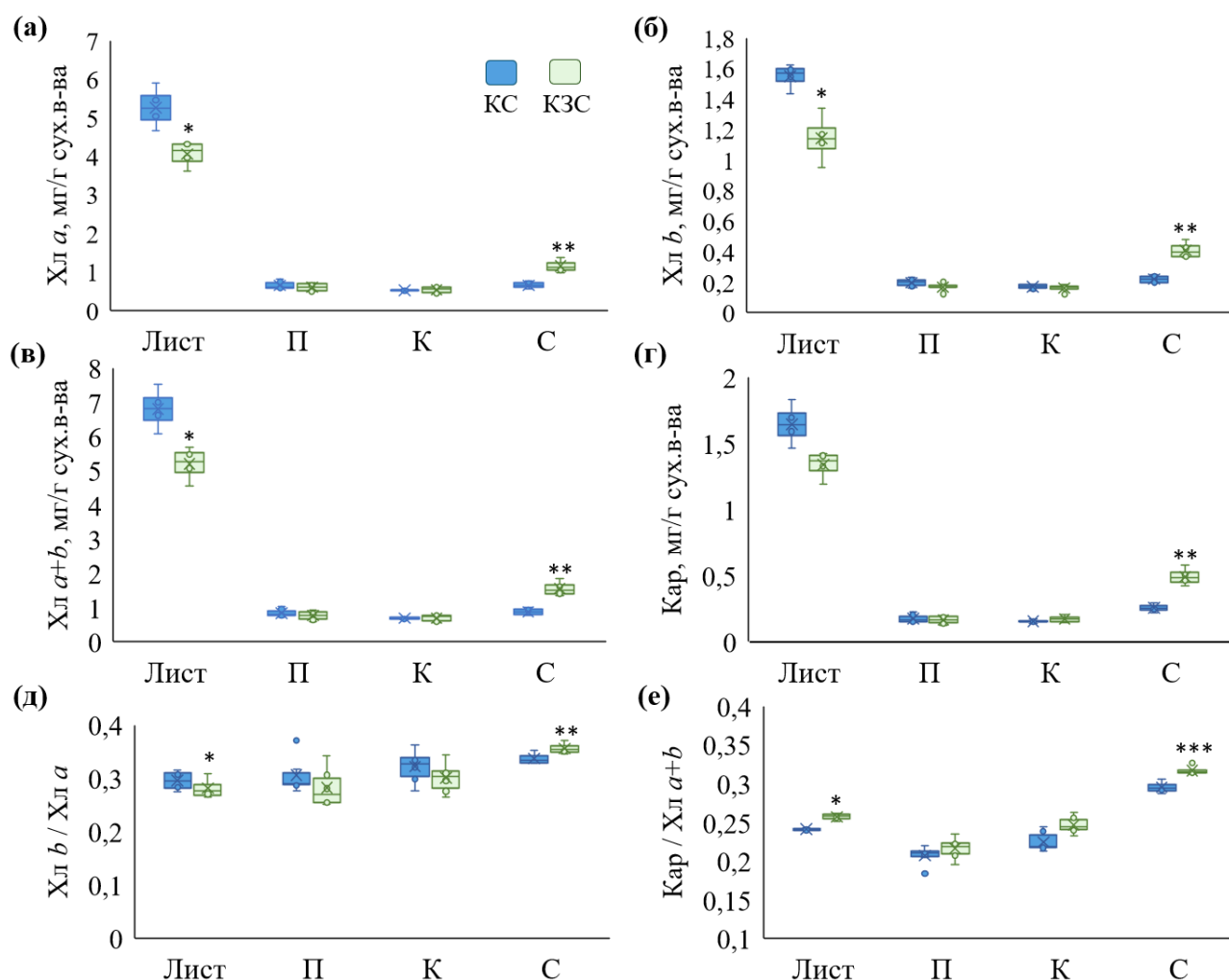
- (1) Оценка содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях, перикарпиях, кожуре и семядолях на средней стадии созревания семян.
- (2) Изучение фотохимической активности в листьях перикарпиях, кожуре и семядолях на средней стадии созревания семян.
- (3) Изучение относительного уровня транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско, в листьях, перикарпиях, кожуре и семядолях на средней стадии созревания семян.
- (4) Оценка посевных качеств и биохимического состава зрелых семян.

3.2.1. Содержание хлорофиллов и каротиноидов

Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрическим методом с использованием для экстракции 96%-го этанола. Сравнивали ткани, сформированные при красно-синем освещении (модуль КС) и красно-синем освещении с добавлением зеленого света (модуль КЗС) на средней стадии созревания семян.

Самые высокие концентрации фотосинтетических пигментов регистрировали в листьях: общее содержание хлорофиллов у них находилось в диапазоне 4–6 мг/г сух.в-ва, а каротиноидов – 1–2 мг/г сух.в-ва, тогда как в перикарпии, кожуре и семядолях их уровень был примерно в 8 раз ниже (Рис. 17а-г).

Добавление зеленого света к красному и синему влияло на профиль фотосинтетических пигментов, однако реакция была тканеспецифичной. У листьев наблюдалось снижение содержания Хл $a+b$ в 1,3 раза, в перикарпии и кожуре достоверных изменений не наблюдалось, а в семядолях, напротив, уровень Хл a и Хл b увеличился в 1,8–1,9 раза.



КС — красный и синий свет, **КЗС** — красный, зелёный и синий свет. Графики представлены в виде коробчатых диаграмм (box plots), отражающих максимальные, минимальные и медианные значения ($n = 3$). Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t -теста Стьюдента для средних при уровне значимости $\alpha = 0,05$. Оценивали двустороннее p -значение. Отмечены значимые различия для каждого типа ткани между вариантами КС и КЗС ($***p \leq 0,001$, $**p \leq 0,01$, $*p \leq 0,05$).

Рисунок 17 — Содержание Хл *a* (а), Хл *b* (б), общего содержания хлорофиллов (Хл) (в), каротиноидов (Кар) (г), отношения Хл *a* к Хл *b* (д) и каротиноидов к хлорофиллам (е) в листьях, перикарпиях (П), кожуре (К) и семядолях (С) гороха сорта Глория на средней стадии созревания семян

Известно, что растения, развивающиеся в условиях затенения, содержат больше хлорофиллов и каротиноидов и имеют больше Хл *b* по сравнению с растениями, растущими в условиях высокого освещения (Lichtenthaler, 1987; Lichtenthaler et al., 2013; Lichtenthaler and Babani, 2022). Поскольку Хл *b* содержится только в светособирающих комплексах (ССК), повышение соотношения Хл *b/a* в

семядолях можно интерпретировать как косвенное доказательство увеличения относительной доли ССК в общем пуле хлорофилл-белковых комплексов.

Ранее было показано, что максимум поглощения Хл *b* имеет небольшое смещение в зеленую область спектра, благодаря чему диапазон поглощения у него расширен (Smith et al., 2017; Kume et al., 2018). Данную особенность рассматривают как адаптивную способность у растительных тканей, развивающихся в условиях низкой освещенности. В нашей работе у семядолей соотношение Хл *b/a* было в среднем в 1,2 раза выше, чем у листьев (Рис. 17д). При этом в случае, когда семядоли формировались в присутствии зеленого света, оно увеличивалось в 1,1 раза по сравнению с условиями формирования только при красном и синем освещении.

Известно, что в листьях растений содержание каротиноидов ниже, чем хлорофиллов, а отношение Кар/Хл варьирует в пределах от 0,1 до 0,5 в зависимости от вида растений и условий их произрастания (Lichtenthaler and Babani, 2022). В рамках нашего исследования в листьях гороха соотношение Кар / Хл *a+b* составляло 0,24 в модуле КС и 0,26 в модуле КЗС (Рис. 17е). У семядолей это отношение увеличивалось до 0,3 и до 0,32, соответственно.

3.2.2. Оценка фотохимической активности методом РАМ-флуориметрии

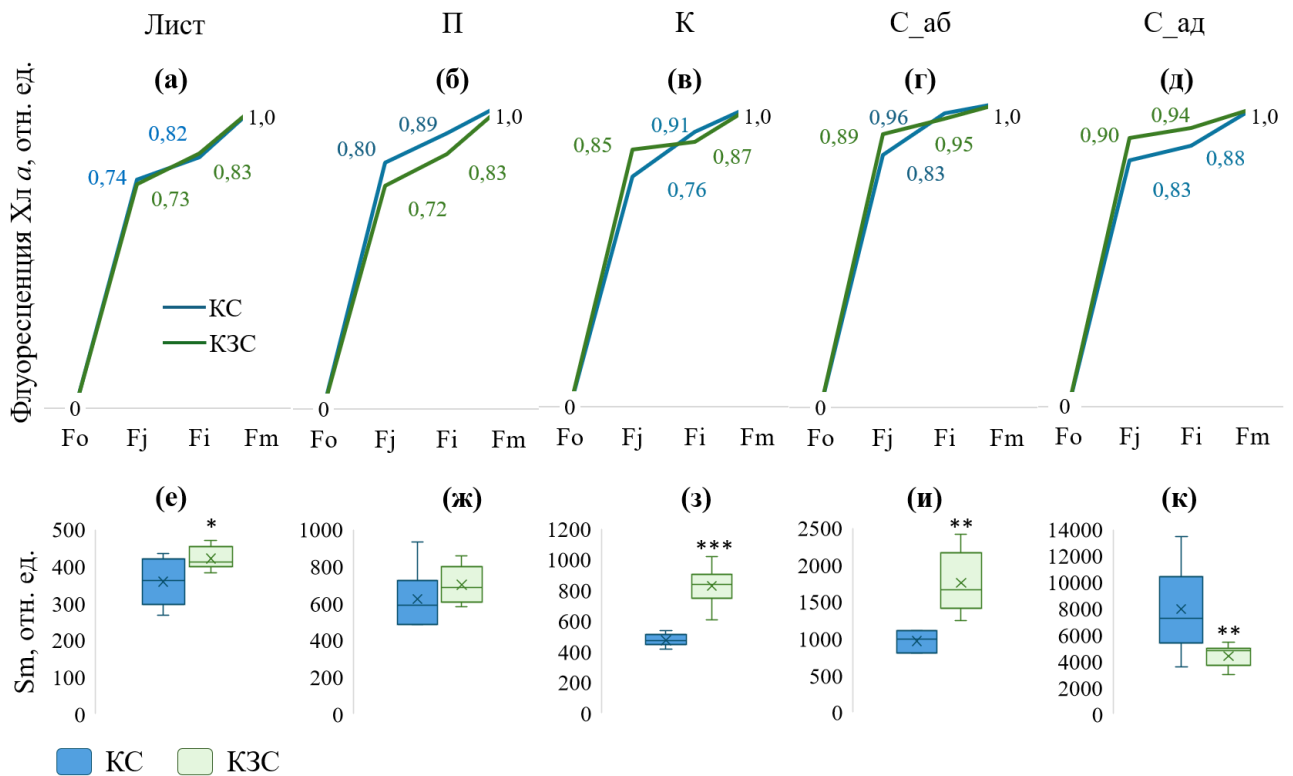
Далее был проведен анализ фотохимической активности в листьях и нелистовых тканях (перикарпий, кожура, семядоли) растений гороха сорта Глория на средней стадии созревания семян. Перикарпий, кожуру и семядоли изолировали из плодов и выдерживали в темноте во влажной фильтровальной бумаге в течение 15 мин. Листья использовали как контроль, позволяющий выявить особенности нелистового фотосинтеза.

На первом этапе была оценена быстрая кинетика флуоресценции хлорофилла *a*, которую измеряли по протоколу ОЛР с использованием FluorPen FP 110 (PSI, Драшов, Чехия). Под воздействием актиничного света интенсивность флуоресценции хлорофиллов увеличивается от минимального уровня (точка «О», которая соответствует показателю *F_o*) до максимального уровня (точка «Р»,

которая соответствует показателю Fm), проходя через две промежуточные фазы в точках «J» и «I» (Гольцев и др., 2016). Переход $Fo \rightarrow Fj$ характеризует перенос электронов от реакционного центра ФС II (P_{680}) к пластохинону Q_A . Точка «J» достигается, когда устанавливается равновесие между восстановлением и окислением Q_A . Переходы $Fj \rightarrow Fi \rightarrow Fm$ характеризуют дальнейшее накопление восстановленного Q_A , восстановление пластохинона Q_B и далее всего пула переносчиков электронов, включая акцепторы ФС I.

Поскольку исходное состояние (точка «O») зависит от количества возбужденных молекул хлорофиллов и эффективности ССК и РЦ фотосистем, данные, представленные на рисунке 18, были нормализованы по единому начальному уровню. Такая нормализация позволила проводить кинетическое сравнение между различными типами тканей. Кривые четко демонстрируют три плато, каждое из которых соответствует этапам переноса электронов в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ). При этом анализ кинетики флуоресценции хлорофилла a выявил значительные различия в фотохимической активности в исследуемых растительных тканях, которые были тканеспецифичны, а также зависели от спектрального состава света, при которых эти ткани формировались (Рис. 18).

В листьях интенсивность флуоресценции хлорофиллов в Fj составляла 0,73–0,74 отн.ед., в точке Fi – 0,82–0,83; при этом различий между модулями КС и КЗС отмечено не было (Рис. 18а). Перикарпии, сформированные в модуле КЗС, медленнее достигали точки Fj и Fi , что проявлялось в более низких показателях интенсивности флуоресценции хлорофиллов, по сравнению с модулем КС (Рис. 18б). Однако, ткани кожуры и семядолей, сформированные в присутствии зеленого света, наоборот, быстрее проходили точки Fj и Fi (примерно в 1,1 раза) (Рис. 18в-д). Особенно значимо это проявлялось в адаксиальной (внутренней) области семядолей (Рис. 18д). Установленный эффект может быть связан с более низким количеством пула акцепторов электронов в тканях, которые были сформированы в условиях низкой интенсивности света (под перикарпием и кожурой).



КС – красный и синий свет, **КЗС** – красный, зелёный и синий свет.

(а–д) флуоресценция Хл *a* в точках Fo, Fj, Fi и Fm. (е–к) Sm – емкость пула пластохинонов, которая характеризует число многократных оборотов (multiple turn-over), требуемых для их полного восстановления. Графики представлены в виде коробчатых диаграмм, отражающих максимальные, минимальные и медианные значения (n = 6). Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t-теста Стьюдента для средних при уровне значимости $\alpha = 0,05$. Оценивали двустороннее *p*-значение. Отмечены значимые различия для каждого типа ткани между вариантами КС и КЗС ($***p \leq 0,001$, $**p \leq 0,01$, $*p \leq 0,05$).

Рисунок 18 — Кинетика возбуждения Хл *a* в листьях (а, е), перикарпиях (б, ж), коже (в, з), абаксиальной (г, и) и адаксиальной области семядолей (д, к) на средней стадии созревания семян гороха сорта Глория

Мы также проанализировали показатель Sm (Рис. 18е-к). РЦ ФСII способен совершить несколько окислительно-восстановительных циклов до того, как пул первичных акцепторов электронов (Q_A и Q_B) полностью восстановится. Величина Sm характеризует число многократных оборотов, требуемых для их полного восстановления и рассчитывается по формуле: $AREA / (Fm - Fo)$, где AREA – площадь над ОЛР кривой, проекция которой начинается в Fo и заканчивается в Fm (Strasser et al., 2000). По сравнению с листьями, Sm был в 1,7 раза выше в перикарпиях, в 2,7 и 4,2 раза – в коже, в 5 раз и 12,7 раза – в абаксиальных и адаксиальных областях семядолей, соответственно. Меньше всего различий

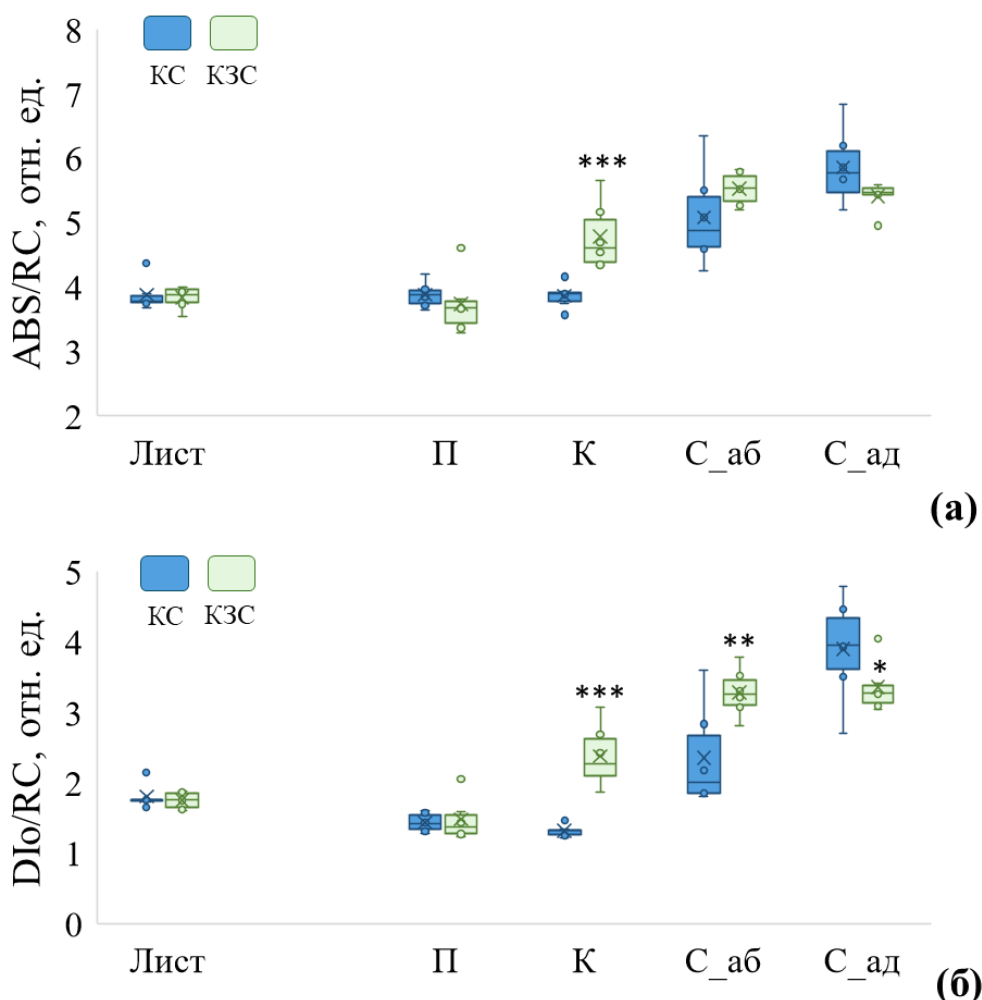
наблюдалось в тканях перикарпия, что указывает на то, что по емкости пула акцепторов их структура наиболее близка к листьям. Причин того, что в коже и семядолях пластохиноны дольше оставались окисленными может быть несколько: более высокая активность альтернативных путей переноса электронов (циклический транспорт ФС I); низкая скорость транспорта электронов из-за высокой вязкости стромы (содержание воды в клетках кожуры и семядолей ниже, чем у листьев и перикарпия); наличие путей «стока» электронов на другие биохимические процессы (в семядолях фотосинтез тесно сопряжен с накоплением запасных питательных веществ). Однако, эти гипотезы экспериментально не подтверждены и требуют дальнейшего изучения.

При сравнении тканей, выращенных в модулях КС и КЗС, было обнаружено, что добавление зелёного света увеличивало Sm в листьях в 1,2 раза, в коже в 1,7 раза и в абаксиальной области семядолей в 1,8 раза. Поскольку зеленый свет проникает в ткани глубже, чем красный и синий, добавление зеленого света могло вовлечь в фотосинтез хлоропласты, которые ранее находились в «тени» (например, мезофилл нижней стороны листа, более глубокие слои кожуры). Это могло привести к увеличению пула переносчиков электронов, что выразилось в увеличении показателя Sm . Однако, в адаксиальной области семядолей под влиянием зеленого света Sm , наоборот, уменьшалось в 2,1 раза (Рис. 18к).

Были также проанализированы удельный поток фотонов, поглощенных ССК, и удельный поток диссипации энергии в расчете на один активный РЦ ФС II (ABS/RC и DIO/RC , соответственно) (Рис. 19).

Показатель ABS/RC отражает две основных характеристики РЦ: размер световых антенн (чем больше пигментов в антенне, тем больше фотонов она способна поглотить) и количество активных РЦ (чем меньше активных РЦ, тем больше приходится на них поглощенных фотонов) (Strasser et al., 2000). В наших экспериментах ABS/RC не различалось у листьев и перикарпиев, и существенно повышалось в коже, сформированной в модуле КЗС (Рис. 19а). Этот эффект может быть связан с увеличением «размера» антенн и/или инактивации части РЦ как приспособление тканей к условиям низкой освещенности. При этом удельный

поток рассеянной энергии на один РЦ (DIo/RC) менялся синхронно с ABS/RC (Рис. 19б). Это указывает в пользу гипотезы увеличения «размера» антенн в расчете на один РЦ в нелистовых тканях.



КС — красный и синий свет, **КЗС** — красный, зелёный и синий свет. Графики представлены в виде коробчатых диаграмм, отражающих максимальные, минимальные и медианные значения.

Выбросы показаны точками. Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t-теста Стьюдента для средних при уровне значимости $\alpha = 0,05$ ($n = 6$). Оценивали двустороннее p -значение. Отмечены значимые различия для каждого типа ткани между вариантами КС и КЗС (***) $p \leq 0,001$, ** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$).

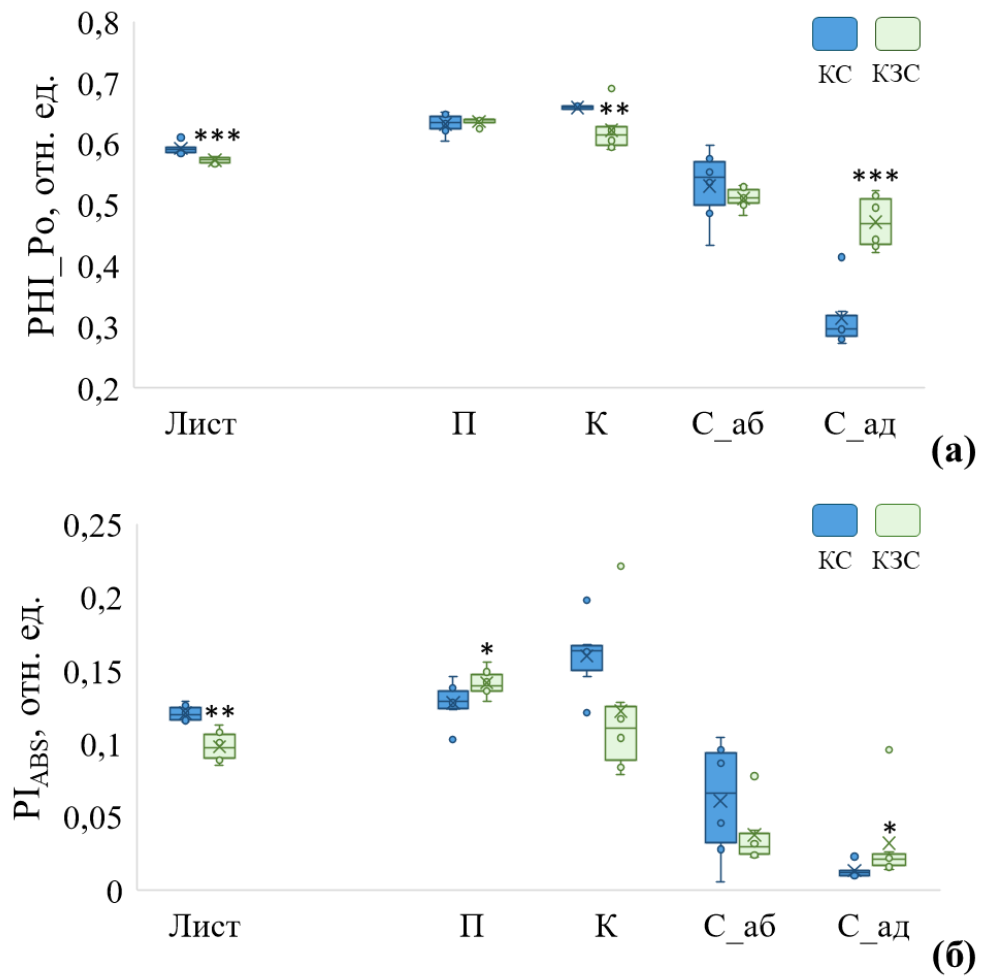
Рисунок 19 — Удельные потоки поглощенных фотонов (а) и диссипации энергии (б) в расчете на один РЦ ФС II в листьях, перикарпиях (П), коже (К), абаксиальной области семядолей (C_аб) и адаксиальной области семядолей (C_ад) на средней стадии созревания семян гороха сорта Глория

Показатель RHI_{Po} представляет информацию о максимальном фотохимическом квантовом выходе ФС II, определяемом соотношением количества квантов света, используемых в разделении зарядов, к общему

количеству фотонов, поглощенных ССК (Strasser et al., 2000). Этот показатель характеризует максимальную потенциальную эффективность работы реакционных центров ФС II в момент, когда все акцепторы окислены (F_o), не зависит от освещенности и отражает потенциальную эффективность сформированного фотохимического аппарата. В среднем, у здоровых зеленых листьев высших растений он равен 0,80–0,85, т.е. 80–85% поглощенной энергии идет на фотохимические процессы.

Нами установлено, что PHI_{Po} не различался в тканях листьев, перикарпия и даже кожуры, однако существенно снижался в семядолях (Рис. 20а). В семядолях, сформированных в модуле КС, по сравнению с листьями, PHI_{Po} был в 2 раза ниже в абаксиальной области и в 9 раз ниже в адаксиальной области. При добавлении зеленого света этот показатель увеличивался в 2,4 раза в адаксиальной области семядолей.

Показатель PI_{ABS} представляет собой интегральный критерий эффективности фотосинтетических процессов. В отличие от PHI_{Po} , который описывает только первичную фотохимию фотосинтеза, PI_{ABS} является многопараметрическим интегральным показателем, который объединяет три ключевых процесса: количество активных РЦ (чем больше, тем выше PI_{ABS}), эффективность первичной фотохимии фотосинтеза (PHI_{Po}), скорость переноса электронов от Q_A к Q_B и тепловое рассеивание (Strasser et al., 2000). У нас наблюдалась синхронная динамика этих показателей в разных типах тканей (Рис. 20б). Это свидетельствует, что главным лимитирующим фактором в наших экспериментах являются именно первичные фотохимические процессы (разделение зарядов в ФС II), а не последующие этапы (транспорт электронов или плотность РЦ).



КС — красный и синий свет, **КЗС** — красный, зелёный и синий свет. Графики представлены в виде коробчатых диаграмм (box plots), отражающих максимальные, минимальные и медианные значения. Выбросы показаны точками. Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t-теста Стьюдента для средних при уровне значимости $\alpha = 0,05$ ($n = 6$). Оценивали двустороннее p -значение. Отмечены значимые различия для каждого типа ткани между вариантами КС и КЗС (***) $p \leq 0,001$, ** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$).

Рисунок 20 — Максимальный квантовый выход (а) и индекс фотосинтетической производительности (б) в листьях, перикарпиях (П), коже (К), абаксиальной области семядолей (C_аб) и адаксиальной области семядолей (C_ад) на средней стадии созревания семян гороха сорта Глория

Таким образом, нами был проведен анализ быстрой индукции флуоресценции хлорофилла a в листьях, перикарпиях, коже, абаксиальной и адаксиальной областях семядолей при двух спектральных режимах: красно-синем (КС) и красно-сине-зелёном (КЗС). Оценивали Φ_{Po} (максимальный фотохимический квантовый выход ФС II), Φ_{ABS} (интегральная эффективность), ABS/RC и DIO/RC (потоки поглощения и рассеивания энергии на один РЦ), а также

Sm («ёмкость» пула пластохинонов). Динамика PI_{ABS} была синхронна с динамикой PHI_{Po} , что указывает на первичную фотохимию как на главный лимитирующий фактор фотосинтеза в нелистовых тканях. В условиях модуля КС листа, перикарпий и кожура имели сходные показатели PHI_{Po} , тогда как в абаксиальной области семядолей он снижался в 2 раза, а в адаксиальной – в 9 раз. При этом в адаксиальной области семядолей фиксировались самые высокие показатели Sm (в 12,7 раза выше листьев) на фоне высоких показателей ABS/RC и DIO/RC . Это указывает на значительную инактивацию РЦ и перегрузку фотонами имеющихся активных РЦ.

Добавление зелёного света оказывало тканеспецифичное действие. В листьях, коже и абаксиальной области семядолей PHI_{Po} практически не менялся, но Sm возрастал в 1,2–1,8 раза, что может быть связано с увеличением пула пластохинонов вследствие проникновения зеленого света в более глубокие слои мезофилла. В адаксиальной области семядолей зелёный свет приводил к частичному восстановлению фотосинтетической функции: PHI_{Po} увеличивался в 2,4 раза, PI_{ABS} синхронно повышался, а DIO/RC , напротив, снижался. Эти результаты можно интерпретировать как свидетельство увеличения количества активных РЦ.

3.2.3. Уровни транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско

На следующем этапе работы с помощью количественного ПЦР в реальном времени была проанализирована транскрипция генов, которые кодируют шаперонины $Cpn60\alpha$ и $Cpn60\beta$, связанные с фолдингом Рубиско, а также генов, кодирующих активазу Рубиско (RCA) и фосфорibuлокиназу (PRK). Исследование проводили на тех же тканях, в которых измеряли особенности фотохимических процессов (листья, перикарпий, кожура, семядоли).

Рубиско является ключевым ферментом фиксации атмосферного CO_2 в растениях в ходе цикла Кальвина-Бенсона-Бэссэма (Gruber and Feiz, 2018), который играет фундаментальную роль в глобальном углеродном цикле биосферы (Amaral et al., 2024). Рубиско представляет собой гексадекамерный белковый комплекс с

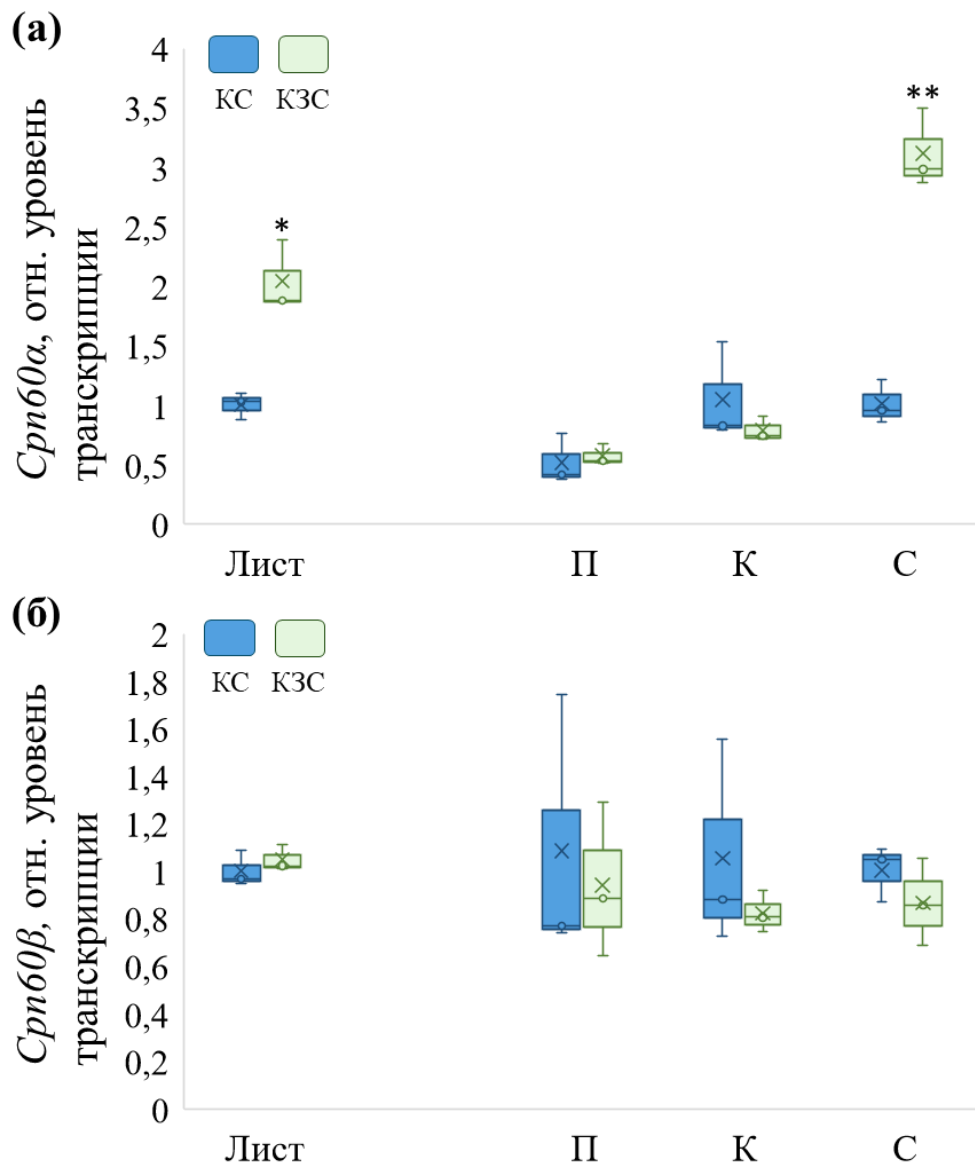
молекулярной массой ~ 550 кДа, состоящий из восьми крупных субъединиц RbcL (50–55 кДа) и восьми малых субъединиц RbcS (12–18 кДа) (Andersson and Backlund, 2008).

Шаперонины обеспечивают правильную сборку Рубиско в хлоропластах. В отличие от бактериальных и митохондриальных аналогов, хлоропластные шаперонины обладают уникальной организацией: гены, их кодирующие, расположены в ядерном геноме, а синтезированные белки после сборки в цитоплазме транспортируются в хлоропласты (Andersson and Backlund, 2008). Ключевой особенностью этих шаперонинов является гетероолигомерная структура, образованная двумя различными типами субъединиц — *Cpn60α* и *Cpn60β* (Andersson and Backlund, 2008). Данная специализированная система играет важнейшую роль в поддержании гомеостаза хлоропластных белков и обеспечении функциональной активности фотосинтетического аппарата в изменяющихся условиях окружающей среды (Gruber et al., 2013).

В работе Kim с соавторами было показано, что экспрессия гена *Cpn60* у риса (*Oryza sativa*) регулируется в процессе его развития (Kim et al., 2013). Авторы установили, что *OsCpn60α1* активен в вегетативных органах, тогда как *OsCpn60α2* экспрессировался преимущественно в развивающихся семенах. При этом экспрессия *OsCpn60α1* и *OsCpn60α2* возрастала при повышенной температуре, тогда как экспрессия генов, кодирующих *Cpn60β*, оставалась неизменной.

В наших экспериментах установлено, что относительный уровень транскрипции гена *Cpn60α* в листьях и нелистовых тканях плодов, сформированных при красном и синем освещении, статистически значимо не различался (Рис. 21а). Однако, при добавлении зеленого света в листьях и семядолях относительный уровень транскрипции *Cpn60α* повышалась в 2 и 3 раза, соответственно (Рис. 21а). При этом относительный уровень транскрипции *Cpn60β* был одинаковым во всех исследованных тканях и не зависел от условий освещения (Рис. 21б). Вероятно, зеленый свет повышает потребность в сборке новых комплексов Рубиско из-за увеличения количества активных хлоропластов. Это требует повышения экспрессии генов, кодирующих регуляторную субъединицу

Srп60α. При этом *Srп60β* присутствует в достаточном количестве и его дополнительный синтез не требуется.



КС — красный и синий свет, КЗС — красный, зелёный и синий свет.

Графики представлены в виде коробчатых диаграмм, отражающих максимальные, минимальные и медианные значения. Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t-теста Стьюдента для средних при уровне значимости $\alpha = 0,05$ ($n = 3$). Оценивали двустороннее p -значение. Данные были нормализованы по уровню транскрипции регуляторной субъединицы А протеинфосфатазы PP2A (GenBank Z25888). Отмечены значимые различия для каждого типа ткани между вариантами КС и КЗС (** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$).

Рисунок 21 — Относительный уровень транскрипции генов *Srп60α* (а) и *Srп60β* (б), кодирующих субъединицы α - и β -связывающих белков большой субъединицы Рубиско в листьях, перикарпиях (П), кожуре (К) и семядолях (С) на средней стадии созревания семян гороха сорта Глория

После сборки Рубиско подвергается карбамилированию. Активный центр фермента может ингибироваться рядом сахарофосфатов (рибулозо-1,5-бисфосфат, 2-карбоксиарабинитол-1-фосфат, 3-кетоарабинитол-бисфосфат), что препятствует связыванию Рубиско с Mg^{2+} (Meloni et al., 2023). Активаза Рубиско (RCA) способна удалять эти ингибирующие сахарофосфаты, используя энергию АТФ, и тем самым восстанавливать активность фермента (Nagarajan and Gill, 2018; Meloni et al., 2023; Amaral et al., 2024). Используя энергию гидролиза АТФ, RCA стимулирует конформационные изменения Рубиско, обеспечивая открытие каталитического центра фермента и удаление ингибирующих сахарофосфатов (Amaral et al., 2024). Взаимосвязь между экспрессией *RCA*, содержанием Рубиско и эффективностью фотосинтеза ранее была показана в семенах кукурузы (*Zea mays*) (Martínez-Barajas et al., 1997) и в листьях риса (*Oryza sativa*) (Li et al., 2024a).

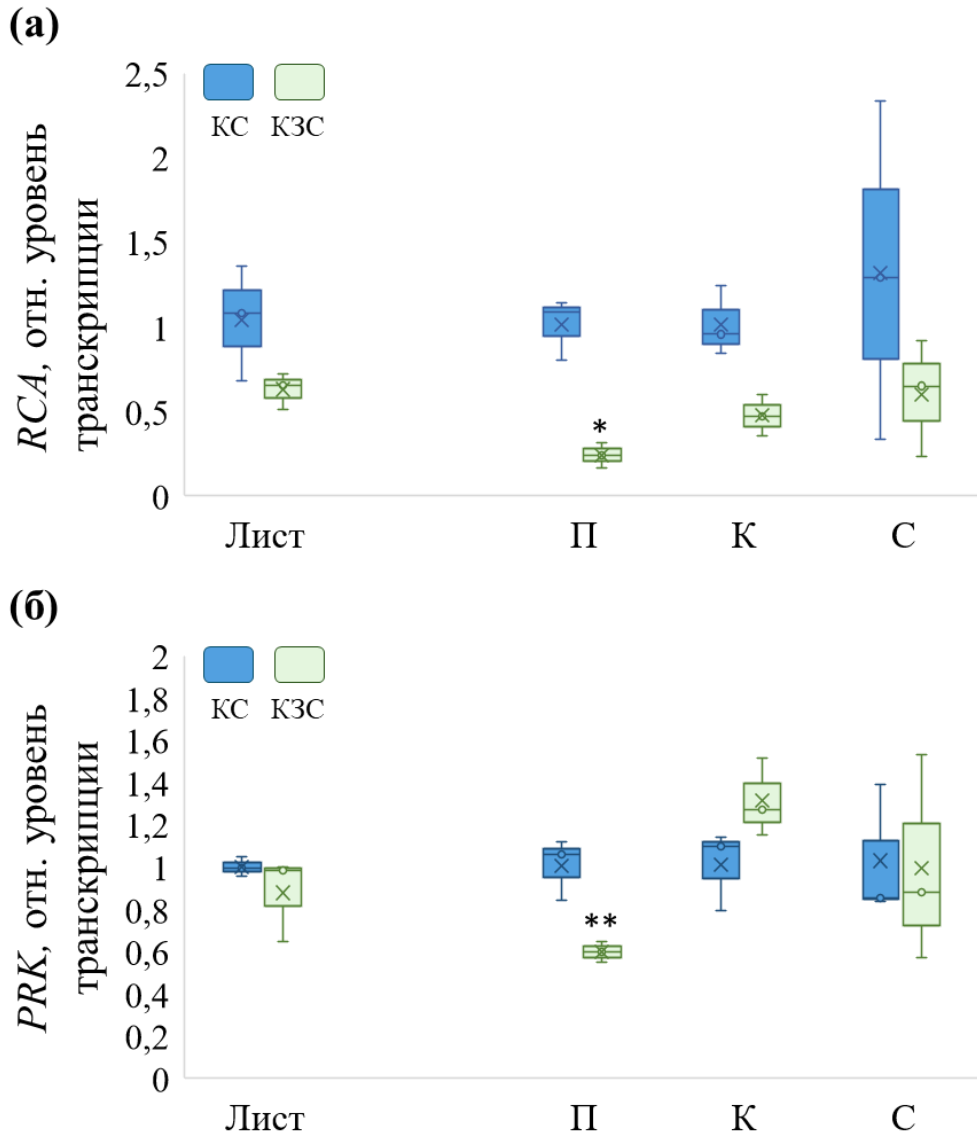
Наши результаты продемонстрировали снижение относительных уровней транскрипции *RCA* в листьях и нелистовых тканях гороха, сформировавшихся в присутствии зелёного света (КЗС) (Рис. 22а).

RCA не структурный, а регуляторный фермент: он не связан со сборкой новых комплексов Рубиско, а отвечает за поддержание существующих комплексов в активном состоянии (Portis et al., 2007; Carmo-Silva et al., 2015; Amaral et al., 2024). Выявленное снижение уровня транскрипции *RCA* в листьях и нелистовых тканях гороха при добавлении зелёного света свидетельствует о стабилизации работы Рубиско и снижении необходимости реактивации фермента с помощью *RCA*.

Для инициации цикла Кальвина-Бенсона-Бэссэма необходим фермент фосфорибулокиназа (рибулозо-5-фосфаткиназа, *PRK*), который катализирует превращение рибулозо-5-фосфата в рибулозо-1,5-бисфосфат с использованием энергии АТФ (Meloni et al., 2023; Amaral et al., 2024).

Фиксация углерода ограничена не только каталитической эффективностью Рубиско, но и способностью к регенерации его субстрата — рибулозо-1,5-бисфосфата (*RuBP*) (Raines, 2022). Фосфорибулокиназа (*PRK*) выступает в качестве ключевого фермента углеродного цикла фотосинтеза, катализируя АТФ-зависимое фосфорилирование рибулозо-5-фосфата (*Ru5P*) в рибулозо-1,5-бисфосфат (*RuBP*)

(Yu et al., 2020). Уровень транскрипции *PRK* в листьях и нелистовых тканях также был примерно одинаков (Рис. 22б). Под воздействием зелёного света наблюдалось 1,7-кратное снижение уровня транскрипции *PRK* в перикарпиях.



КС — красный и синий свет, **КЗС** — красный, зелёный и синий свет. Графики представлены в виде коробчатых диаграмм (box plots), отражающих максимальные, минимальные и медианные значения. Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t-теста Стьюдента для средних при уровне значимости $\alpha = 0,05$ ($n = 3$). Оценивали двустороннее p -значение. Данные были нормализованы по уровню транскрипции регуляторной субъединицы А протеинфосфатазы PP2A (GenBank Z25888). Отмечены значимые различия для каждого типа ткани между вариантами КС и КЗС (** $p \leq 0,01$, * $p \leq 0,05$).

Рисунок 22 — Относительный уровень транскрипции генов *RCA* (а) и *PRK* (б), кодирующих активазу Рубиско и фосфорibuлокиназу в листьях, перикарпиях (П), кожуре (К) и семядолях (С) на средней стадии созревания семян гороха сорта Глория

Снижение относительных уровней транскрипции *RCA* и *PRK* в перикарпиях при добавлении зелёного света может свидетельствовать о перераспределении метаболической нагрузки в плодах. В условиях только красного и синего света перикарпий вынужден поддерживать повышенный уровень транскрипции генов углеродного цикла, что может компенсировать неэффективный метаболизм в семядолях. Добавление зелёного света активирует собственный фотосинтетический аппарат семядолей, что позволяет перикарпию снизить затраты на синтез ферментов.

Таким образом, на основе анализа полученных данных можно предложить следующую модель:

- При выращивании растений в модуле с красными и синими светодиодами семядоли гороха (особенно адаксиальная область) характеризуются низкой фотосинтетической активностью: РЦ ФС II инактивированы, сборка новых комплексов Рубиско минимальна (уровень транскрипции *Cpn60a* низкий).
- При выращивании растений в модуле с красными, зелеными и синими светодиодами добавление зелёного света стимулирует фотохимическую активность семядолей. Это, по-видимому, обусловлено активацией РЦ ФС II (рост *RNI_Po*), интенсификацией сборки Рубиско (повышение уровня транскрипции *Cpn60a*) и ускорением транспорта электронов (снижение *Sm*). При этом в перикарпиях наблюдается снижение уровня транскрипции *RCA* и *PRK*, что может быть компенсаторной реакцией на активацию фотосинтетического аппарата в семядолях.

3.3. Физиологическая и биохимическая оценка качества семян гороха, сформировавшихся при разных условиях освещения

Известно, что функционирование хлоропластов в зародышах семян направлено, в основном, на восстановление окисленного НАДФ⁺ до НАДФН и синтез АТФ, которые впоследствии расходуются на превращение сахарозы, поступающей из материнского растения, в ацетил-СоА и, далее, в жирные кислоты (Ruuska et al., 2004; Wu et al., 2014; Allorent et al., 2015; Smolikova et al., 2018;

Shackira et al., 2022). Следовательно, эффективность функционирования хлоропластов в семядолях должна влиять на синтез запасных питательных веществ (белков, крахмала и масел).

Нами было выявлено, что зелёный свет способен стимулировать фотохимическую активность в семядолях. Представляло интерес выяснить, повлияли ли изменения на уровне первичной фотохимии и транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско, на посевные и пищевые качества зрелых семян. С этой целью была оценена способность семян к прорастанию, проанализировано общее количество накопленных запасных питательных веществ (белки, крахмал и масла), а также проведен метаболомный анализ семян методами газовой и обращённо-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии.

3.3.1. Посевные и пищевые качества семян

Установлено, что сырая масса зрелых семян гороха, сформировавшихся в присутствии зелёного света (КЗС), была на 7,6 % выше, чем масса семян, сформировавшихся в модуле КС (Табл. 7). Поскольку значимых различий по содержанию крахмала и масел обнаружено не было, увеличение массы семян можно отнести за счёт содержания белка.

Как известно, семена бобовых растений, в частности гороха, являются белковыми культурами, и именно содержание белка служит важным критерием их пищевого качества (Shen et al., 2022; Ćujić Nikolić et al., 2026). Зрелые семена гороха, сформировавшиеся в присутствии зелёного света, содержали $22,0 \pm 0,6$ % белка по сравнению с семенами, сформировавшимися только при красном и синем свете ($19,0 \pm 0,2$ %).

Оценка посевных качеств семян включала определение скорости прорастания, количества проросших семян и числа нормально развитых проростков на 8-е сутки их развития (Табл. 7). Наблюдалась тенденция к повышению этих показателей в партии семян, сформированных с добавлением зелёного света. По сравнению с модулем КС, средние значения T_{10} , T_{25} и T_{50} в

варианте КЗС были ниже в 1,3, 1,25 и 1,18 раза соответственно, а количество нормально развитых проростков — в 1,25 раза выше. Однако, вследствие большого разброса данных, эта тенденция не получила статистического подтверждения.

Таблица 7 — Количество запасных питательных веществ и всхожесть зрелых семян гороха сорта Глория, сформировавшихся при разных условиях освещения

Показатель	Условия освещения	Среднее ± стандартное отклонение	Статистическая обработка		
			t	df	p-значение
Сырая масса одного семени, г	КС	0,234 ± 0,035	-15,205	58	< 0,001
	КЗС	0,251 ± 0,036			
Белок, %	КС	19 ± 0,2	-7,913	4	0,001
	КЗС	22 ± 0,6			
Крахмал, %	КС	50 ± 0,8	-0,393	4	0,714
	КЗС	51 ± 1,6			
Масла, %	КС	13 ± 1,1	-0,427	4	0,691
	КЗС	14 ± 0,5			
T ₁₀	КС	1,7 ± 0,5	1,819	6	0,119
	КЗС	1,3 ± 0,1			
T ₂₅	КС	2,0 ± 0,4	1,437	6	0,201
	КЗС	1,6 ± 0,2			
T ₅₀	КС	2,6 ± 0,1	1,895	6	0,107
	КЗС	2,2 ± 0,4			
Количество проросших семян, %	КС	94 ± 6,9	0	6	1,000
	КЗС	94 ± 6,7			
Количество нормально развитых проростков, %	КС	73 ± 19,2	-1,866	6	0,111
	КЗС	91 ± 5,9			

КС — красный и синий свет, **КЗС** — красный, синий и зеленый свет; **T₁₀**, **T₂₅**, **T₅₀** — время прорастания (сутки) 10, 25 и 50% семян, соответственно. **t** — значение *t*-статистики; **df** — число степеней свободы

3.3.2. Метаболомный анализ зародышей зрелых семян гороха с использованием методов ГХ-МС и ОФ-УВЭЖХ-МС

Для выявления метаболических путей, лежащих в основе влияния зелёного света на качество семян, был проведен метаболомный анализ зародышей зрелых семян гороха сорта Глория, сформировавшихся в модулях КС и КЗС, с использованием двух методов: газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) для анализа термостабильных первичных метаболитов и обращённо-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ОФ-

УВЭЖХ-МС) для анализа термолабильных первичных метаболитов. Термостабильные метаболиты — это аминокислоты, органические кислоты, сахара, спирты и др., которые требуют дериватизации, но устойчивы к нагреву. Термолабильные метаболиты это фосфорилированные соединения (АТФ, АДФ, сахарофосфаты), нуклеотиды, коферменты и др., которые разрушаются при нагреве и требуют мягкой ионизации. Использование двух методов позволяет получить максимально полный метаболомный профиль.

С использованием ГХ-МС было обнаружено 143 первичных термостабильных метаболита, 128 из которых были идентифицированы до класса соединений. Идентификация осуществлялась как на основе коэлюции аналитов с аутентичными стандартами (68 метаболитов), так и при помощи доступных библиотек масс-спектров (NIST, GMD, внутренние библиотеки (ASL)) (60 метаболитов) (Табл. 4П). Термостабильные метаболиты были представлены следующими классами: *17 аминокислот* (в т. ч. 5 непротеиногенных аминокислот: β -аланин, гомосерин, орнитин, γ -аминомасляная и пироглутаминовая кислоты), *14 органических кислот* (гликолевая кислота, винная кислота, ди- и трикарбоновые кислоты цикла Кребса, несколько производных масляной кислоты и др.), *68 углеводов* (моно-, ди- и трисахариды, сахарофосфаты, сахароспирты, альдоновые кислоты), *6 фенольных соединений* (в т. ч. 4 фенольные кислоты), *6 жирных кислот* (пальмитиновая, линолевая, олеиновая и др.), *7 аминов* (включая полиамины путресцин и спермидин), *2 стерола* (кампестерол, ситостерол). Остальные 15 соединений не были идентифицированы.

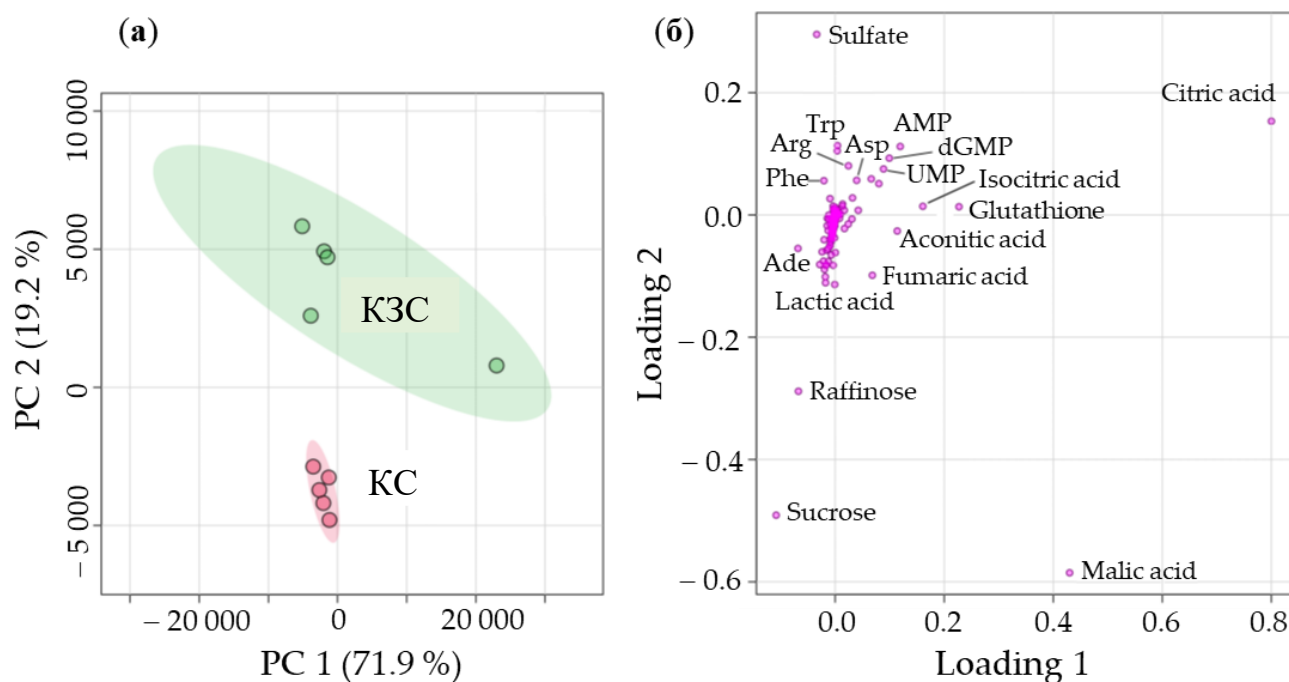
С использованием ОФ-УВЭЖХ-МС было обнаружено 89 первичных термолабильных метаболита, идентифицированных по коэлюции с аутентичными стандартами и данными МС. Термолабильные метаболиты были представлены следующими классами: *14 фосфорилированных сахаров и их производных* (фруктозо-1,6-дифосфат, глицеральдегид-3-фосфат, седогептулозо-7-фосфат и др.), *26 нуклеотидов и нуклеозидов* (гуанозин, аденозин, инозиновая кислота, НАДФ, различные производные АТФ и др.), *16 аминокислот*, *18 органических кислот*, пантотеновая кислота, глутатион, аллантаин и другие соединения (Табл. 5П).

Большинство аминокислот, несколько органических кислот (лимонная, яблочная, гликолевая, фумаровая и др.), а также глюкоза, сахароза и некоторые сахарофосфаты были обнаружены обоими методами (ГХ-МС и ОФ-УВЭЖХ-МС).

Таким образом, были аннотированы 232 термостабильных и термолабильных метаболита, на основе которых анализировали биохимические различия между зародышами гороха, сформировавшимися при разных условиях освещения (КС и КЗС). Интегрированные площади пиков термостабильных и термолабильных метаболитов, детектированных в каждом образце, были сведены в цифровую матрицу и обработаны с использованием программы MetaboAnalyst 6.0. Метод главных компонент (МГК) выявил существенные различия в паттернах первичных метаболитов семян гороха в зависимости от условий освещения (Рис. 23).

На рисунке 23а показано распределение профилей термостабильных и термолабильных метаболитов на плоскости 2-х главных компонент (PC1 и PC2), основанное на матрице, содержащей 232 метаболита. Четко видно разделение образцов на два кластера, соответствующих экспериментальным группам КС и КЗС. Доля объясненной дисперсии составила 91,1 %.

На рисунке 23б показан график нагрузок (loadings plot), характеризующий значимость метаболитов, которые внесли вклад в разделение профилей первичных метаболитов при их анализе МГК. Наибольший вклад в биохимические различия между вариантами внесли сахароза, раффиноза, яблочная, лимонная и изолимонная кислоты, мио-инозитол, АМФ, глутатион и глутатиондисульфид. При этом, содержание сахарозы, раффинозы и яблочной кислоты в варианте КЗС достоверно снижалось.



КС — красный и синий свет, **КЗС** — красный, зелёный и синий свет. **РС** — главная компонента. Доля объясненной дисперсии составляет 91,1%. **AMP** — аденозинмонофосфат, **dGMP** — 2-дезоксигуанозин-5'-монофосфат, **UMP** — уридинмонофосфат, **Phe** — фенилаланин, **Arg** — аргинин, **Asp** — аспарагиновая кислота, **Trp** — триптофан

Рисунок 23 — (а) Распределение профилей первичных метаболитов, рассчитанное по методу главных компонент (а), и график нагрузок, характеризующий значимость переменных (б) в зародышах зрелых семян гороха сорта Глория

В таблице 8 показаны метаболиты, содержание которых статистически значимо менялось при кратности изменения выше 1,5 и p ниже или равно 0,05 (с поправкой FDR) в зародышах зрелых семян гороха, сформировавшихся в модуле КЗС, по сравнению с модулем КС. Из них содержание 48 метаболитов снижалось. Достоверное снижение продемонстрировали углеводы (сахара, полиолы и сахарные кислоты), органические кислоты и азотсодержащие вещества (мочевая кислота, спермидин и несколько циклических нуклеотидов). Мочевая, молочная и α -кетоглутаровая кислоты, выступающие в качестве промежуточных метаболитов основных синтетических и энергетических путей (гликолиз, цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) и пентозофосфатный путь), продемонстрировали наиболее значительное снижение относительного содержания (в 3,4–7,6 раз).

Промежуточные метаболиты гликолиза, такие как фосфоенолпируват (ФЕП) и пировиноградная кислота (пируват), по-видимому, могут быть задействованы в

синтезе жирных кислот и в анаплеротическом пути, направленном на восполнение пула промежуточных метаболитов цикла Кребса (Yang et al., 2009). Было показано, что ФЕП-карбоксилаза обладает высокой активностью в процессе созревания семян (Feria et al., 2008; Černý et al., 2010). При этом ФЕП и промежуточные метаболиты цикла Кребса далее могут быть задействованы для синтеза аминокислот, которые затем используются в синтезе запасных белков семян (Yang et al., 2009).

Таблица 8 — Метаболиты, содержание которых статистически значимо менялось при кратности изменения $\geq 1,5$ и $p \leq 0,05$ (с поправкой FDR) в зародышах зрелых семян гороха сорта Глория, сформировавшихся в модуле КЗС (красный, зеленый, синий свет), по сравнению с модулем КС (красный, синий свет)

Название метаболита	Кратность изменения	p-значение	Метод анализа
Метаболиты, содержание которых снижалось:			
<i>Органические кислоты:</i>			
Lactic acid	5.9, 4.3	< 0.001, < 0.001	ГХ-МС, ОФ-УВЭЖХ-МС
α -Ketoglutaric acid	3.3, 2.4	0.027, < 0.001	ГХ-МС, ОФ-УВЭЖХ-МС
2-Hydroxyglutaric acid	2.9	< 0.001	ГХ-МС
2,4-Hydroxybutyric acid	2.8	0.002	ГХ-МС
Tartaric acid	2.3	0.036	ГХ-МС
Glycolic acid	1.9	0.004	ГХ-МС
Malic acid	1.8	< 0.001	ГХ-МС
γ -Aminobutyric acid	1.7	< 0.001	ГХ-МС
β -Hydroxybutyric acid	1.6	0.003	ГХ-МС
Pyruvic acid	1.5	0.005	ОФ-УВЭЖХ-МС
<i>Сахара, сахарофосфаты, полиолы, сахарные кислоты:</i>			
Maltose	3.3	0.001	ГХ-МС
Dulcitol	2.6	< 0.001	ГХ-МС
Xylitol	2.5	< 0.001	ГХ-МС
Maltitol	2.4	< 0.001	ГХ-МС
RI 3460 trisaccharide	2.1	< 0.001	ГХ-МС
RI 3502 trisaccharide	2.1	< 0.001	ГХ-МС
Sequoitol	2.0	< 0.001	ГХ-МС
RI 3487 trisaccharide	2.0	< 0.001	ГХ-МС
Erllose	1.9	< 0.001	ГХ-МС
RI 2687 carbohydrate	1.9	< 0.001	ГХ-МС
Galactonic acid	1.9	< 0.001	ГХ-МС
Glyceraldehyde-3-phosphate	1.8	0.033	ОФ-УВЭЖХ-МС

Xylose	1.7	0.001	ГХ-МС
RI 2719 disaccharide	1.7	< 0.001	ГХ-МС
Galactose	1.7	0.002	ГХ-МС
Glucaric acid	1.6	< 0.001	ГХ-МС
Glycerol-3-phosphate	1.6	0.002	ОФ-УВЭЖХ-МС
Galactaric acid	1.6	0.013	ГХ-МС
Glucuronic acid	1.6	0.002	ГХ-МС
RI 2183 hexose	1.6	< 0.001	ГХ-МС
Mannose	1.5	0.004	ГХ-МС
Sucrose	1.5	< 0.001	ГХ-МС
<i><u>Азотсодержащие метаболиты различной природы:</u></i>			
Uric acid	7.1	< 0.001	ОФ-УВЭЖХ-МС
Spermidine	1.9	0.008	ГХ-МС
Nicotinic acid	1.8	< 0.001	ОФ-УВЭЖХ-МС
RI 2487 amine	1.8	0.030	ГХ-МС
Glutamic acid	1.8	< 0.001	ГХ-МС
Ethanolamine	1.5	0.004	ГХ-МС
<i><u>Нуклеотиды:</u></i>			
Cyclic guanosine monophosphate	2.1	0.006	ОФ-УВЭЖХ-МС
Adenosine-2,3-cyclic monophosphate / Adenosine-3,5-cyclic monophosphate	1.8	0.004	ОФ-УВЭЖХ-МС
<i><u>Разное (Miscellaneous) и неидентифицированные метаболиты:</u></i>			
Pentanoic acid derivative	2.0	0.016	ОФ-УВЭЖХ-МС
Methylphosphate	1.9	0.014	ГХ-МС
γ -Tocopherol	1.8	0.032	ГХ-МС
RI 2438 unknown	1.7	< 0.001	ГХ-МС
RI 1650 unknown	1.6	< 0.001	ГХ-МС
RI 1234 unknown	1.5	0.015	ГХ-МС
RI 1528 unknown	1.5	< 0.001	ГХ-МС
RI 3251 unknown	1.5	0.002	ГХ-МС
Метаболиты, содержание которых повышалось:			
Ornithine	3.5	0.017	ОФ-УВЭЖХ-МС
Tryptophan	1.6, 2.3	0.001, 0.001	ГХ-МС, ОФ- УВЭЖХ-МС
Arginine	2.2	< 0.001	ОФ-УВЭЖХ-МС
Aspartic acid	1.7	0.016	ОФ-УВЭЖХ-МС

Статистический анализ выполнен с использованием MetaboAnalyst 6.0
(<http://www.metaboanalyst.ca>). RI – retention index

Под воздействием зеленого света (модуль КЗС) было отмечено значительное повышение содержания четырех аминокислот: орнитина, триптофана, аргинина и аспарагиновой кислоты (аспартат) ($p \leq 0,02$, $FC \geq 1,7$). Следует отметить, что некоторые из этих аминокислот вовлечены в орнитиновый цикл и биосинтез

полиаминов (Stepanova et al., 2024). При этом, аргинин является наиболее распространенной формой для хранения и транспорта органического азота, а также выступает предшественником в синтезе его оксида (NO) (Winter et al., 2015). В белках семян различных видов растений на долю аргинина приходится 40–50% органического азота, а его содержание в пуле свободных аминокислот в развивающихся семенах гороха достигает 50% (de Ruiter and Kollöffel, 1983).

Следует отметить, что орнитин, аргинин и аспартат являются ключевыми метаболитами орнитинового цикла (цикла мочевины), в ходе которого азотсодержащие соединения утилизируются с образованием орнитина и мочевины. Орнитин, при этом, выступает не только как промежуточный продукт данного цикла, но и является ключевым предшественником биосинтеза аргинина и путресцина. Путресцин является центральным продуктом биосинтетического пути полиаминов, а также выступает предшественником спермидина и спермина (Chen et al., 2019a).

Существует множество сообщений, указывающих, что полиамины способны улучшать работу фотосинтетического аппарата растений. Связь между полиаминами и фотосинтезом подтверждается высоким содержанием путресцина, спермидина и спермина в тилакоидных мембранах и светособирающем комплексе ФС II, тогда как ее реакционный центр обогащен преимущественно спермином (Demetriou et al., 2007; Navakoudis et al., 2007). Кроме того, активность ключевых ферментов биосинтеза полиаминов – аргининдекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, спермидинсинтазы и сперминсинтазы может меняться в зависимости от интенсивности освещения (Takács et al., 2016; Lv et al., 2021).

Показано, что растения способны поддерживать оптимальные концентрации и соотношение полиаминов при разных спектральных составах света (Pál et al., 2022). В ряде работ сообщалось, что количество света и продолжительность освещения влияют на концентрацию полиаминов в клетках в большей степени, чем качество света (Takács et al., 2016; Toldi et al., 2019; Gondor et al., 2021). Gondor с коллегами продемонстрировали, что свет может регулировать уровень эндогенного путресцина в листьях пшеницы (*Triticum aestivum*), с другой стороны, обработка

экзогенными полиаминами улучшает фотосинтез при низкой освещённости (Gondor et al., 2021). Обнаружено также, что экзогенные полиамины повышают фотохимическую активность ФС II огурцов (*Cucumis sativus*), выращенных в условиях абиотического стресса, вызванного засолением (Zhang et al., 2009). Кроме того, Ioannidis и Kotzabasis подчеркнули важность хлоропластных полиаминов для функционирования фотосинтетических мембран (Ioannidis and Kotzabasis, 2007). Механизм действия полиаминов, вероятнее всего, связан с их прямым связыванием с белками мембран, а также гидрофильными доменами полипептидов ФС II. Полиамины действуют посредством электростатического взаимодействия благодаря своим поликатионным свойствам, а эффективность этого взаимодействия убывает в следующем порядке: спермин > спермидин > путресцин (Shu et al., 2012). Такое электростатическое взаимодействие может обеспечивать стабильность тилакоидных белков и способствовать поддержанию фотосинтетической активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Свет является важнейшим ресурсом для растений, обеспечивая их энергией для фотосинтеза и выполняя сигнальную функцию, модулирующую рост и развитие. Интенсивность и спектральный состав света существенно влияют на физиологические, морфологические и биохимические характеристики растений. Долгое время в науке преобладало мнение о незначительной роли зелёного света, поскольку фотосинтетические пигменты поглощают его слабее, чем с синий и красный свет. Однако литературные данные свидетельствуют о том, что фотоны в зеленой области солнечного спектра не только поглощаются растительными тканями, но и участвуют в регуляции морфогенеза растений (Wang and Folta, 2013; Головацкая и Карначук, 2015; Smith et al., 2017; Kume, 2017).

Известно, что добавление зелёного света к белому позволяет стимулировать фотохимические процессы благодаря способности фотонов в зеленой области солнечного спектра проникать в более глубокие слои растительных тканей (Terashima et al., 2009; Trojak et al., 2022). Специфический фоторецептор на зелёный свет в настоящее время не идентифицирован, но предполагается, что его могут поглощать криптохромы (Wang and Folta, 2013). Существует также гипотеза о вовлечении каротиноидов в процесс поглощения фотонов в зеленой части спектра с последующей передачей электронного возбуждения на хлорофиллы в антенных комплексах фотосистем (Smith et al., 2017).

Целью нашей работы являлось изучение влияния зелёного света на эффективность фотозависимых процессов в формирующихся семенах гороха. Фотохимические процессы, которые происходят при развитии зеленых семян на материнском растении, относятся к нелистовому типу фотосинтеза. Несмотря на то, что семенная продуктивность растений определяется главным образом фотосинтезом листьев, поставляющим основную массу ассимилятов для формирующихся семян, у многих видов растений для максимально эффективного накопления запасных питательных веществ необходимы также фотохимические реакции, протекающие непосредственно в семенах. При этом зародыши семян

покрыты плодовой и семенной оболочками, которые экранируют их, снижают интенсивность солнечной радиации и меняют ее спектральный состав.

В ходе наших исследований были определены спектральные характеристики света, которые достигают зародышей формирующихся семян гороха. Нами было показано, что проникающая сквозь покровные ткани плодов ФАР, обогащена зелёными длинами волн, при этом интенсивность красного света регистрировалась на крайне низком уровне, а синий свет отсутствовал. Тем не менее, при столь низком уровне освещенности в красном и синем диапазоне, семядоли гороха содержали хлорофиллы и фотохимически активные хлоропласты и демонстрировали фотохимическую активность, которую оценивали методом РАМ-флуориметрии.

Полученные результаты послужили основой для постановки задачи по выявлению роли зеленого света в обеспечении семян световой энергией для осуществления ими фотохимических процессов. Для решения поставленной задачи была создана установка, каждый модуль которой имел независимое освещение, создаваемое комбинацией из красных (600–700 нм), синих (400–500 нм) и зеленых (500–600 нм) светодиодов (получен патент № 220784 от 12 июля 2023 г.). Растения выращивали при красно-синем освещении (модуль КС) и красно-синем освещении с добавлением зеленого света (модуль КЗС).

Наши эксперименты показали значимые изменения в пигментном профиле растительных тканей гороха (лист, перикарпий, кожура и семядоли), опосредованные зелеными длинами волн. Добавление зеленого света к красному и синему способствовало увеличению концентрации хлорофиллов в тканях семядолей с увеличением соотношения Хл b/a в 1,1 раза. Была также проанализирована быстрая индукция флуоресценции Хл a (ОЛР тест). Оценивали показатели PFI_{Po} (максимальный квантовый выход ФС II после темновой адаптации), PI_{ABS} (интегральная эффективность фотосинтеза), ABS/RC и DIO/RC (поглощение и рассеивание энергии в расчете на один РЦ), а также Sm , который характеризует количество окислительно-восстановительных циклов, необходимых для полного восстановления пула хинонов. В модуле КС листья, перикарпий и

кожура имели сходные показатели PHI_{Po} , тогда как в абаксиальной (наружной) области семядолей он снижался в 2 раза, а в адаксиальной (внутренней) – в 9 раз. В адаксиальной области семядолей также регистрировались самые высокие показатели Sm (в 12,7 раза выше, чем у листьев) на фоне высоких показателей DIO/RC , что указывает на «перегрузку» РЦ фотонами.

Добавление зелёного света действовало тканеспецифично. В листьях, коже и абаксиальной области семядолей PHI_{Po} практически не менялся, но Sm возрастал в 1,2–1,8 раза. При этом в адаксиальной области семядолей зелёный свет частично восстанавливал фотосинтетическую функцию: PHI_{Po} и PI_{ABS} повышались, а DIO/RC снижался, что косвенно указывает на увеличение числа активных РЦ, которое может происходить при увеличении интенсивности доступного света. Согласно модели Strasser и соавторов (2000), показатель ABS/RC отражает размер световых антенн: чем больше пигментов, тем выше количество поглощенных фотонов. В наших экспериментах при добавлении зелёного света (модуль КЗС) ABS/RC не различался у листьев и перикарпиев, но значительно повышался в коже.

Методом количественной ПЦР в реальном времени проанализирована транскрипция генов, которые кодируют шаперонины $Cpn60\alpha$ и $Cpn60\beta$, связанные с фолдингом Рубиско, а также уровни транскрипции генов, кодирующих активазу Рубиско (RCA) и фосфорибулокиназу (PRK). В модуле КС транскрипция гена $Cpn60\alpha$ не различалась у листьев и исследованных нелистовых тканей. Однако, в модуле КЗС транскрипция $Cpn60\alpha$ была выше в листьях и семядолях в 2 и 3 раза, соответственно. При этом уровень транскрипции $Cpn60\beta$ был одинаковым во всех исследованных тканях и не зависел от условий освещения. Вероятно, зеленый свет повышает потребность в сборке новых комплексов Рубиско из-за увеличения количества активных хлоропластов. Это требует повышения транскрипции регуляторной субъединицы $Cpn60\alpha$. При этом $Cpn60\beta$ присутствует в достаточном количестве и его дополнительный синтез, по-видимому, не требуется.

После сборки фермент Рубиско подвергается карбамилированию, однако его активный центр может ингибироваться сахарофосфатами, что препятствует

связыванию с Mg^{2+} . Активаза Рубиско (RCA) с использованием энергии АТФ удаляет эти ингибиторы, восстанавливая активность фермента. Наши результаты продемонстрировали снижение транскрипции *RCA* в листьях и нелистовых тканях гороха при добавлении зелёного света. Поскольку RCA является регуляторным, а не структурным ферментом, выявленное снижение уровней транскрипции указывает на стабилизацию работы Рубиско и снижение потребности в её реактивации.

Фермент фосфорибулокиназа (PRK) катализирует АТФ-зависимое превращение рибулозо-5-фосфата в рибулозо-1,5-бисфосфат, который является субстратом Рубиско. Уровень транскрипции *PRK* в листьях и нелистовых тканях был примерно одинаков, однако под воздействием зелёного света наблюдалось 1,7-кратное снижение транскрипции *PRK* в перикарпиях. Это может свидетельствовать о перераспределении метаболической нагрузки в плодах. Добавление зелёного света активирует фотосинтетический аппарат семядолей, позволяет перикарпию снизить затраты на синтез этих ферментов.

Известно, что функционирование хлоропластов в зародышах формирующихся семян, направлено преимущественно на восстановление НАДФ⁺ и синтез АТФ, которые затем используются в процессе превращения сахарозы, поступающей из материнского растения, в ацетил-СоА и далее в жирные кислоты, что в конечном счёте приводит к образованию белков, крахмала и масел в зависимости от вида семян. Поэтому представляло особый интерес выяснить, повлияло ли наличие зеленого света на уровень первичных фотохимических реакций, на уровни транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско, а также на посевные и пищевые качества зрелых семян. Установлено, что масса зрелых семян, сформировавшихся в присутствии зеленого света, была выше на 7,6%, а содержание белка увеличивалось на 15,8%. Поскольку значимых различий по содержанию крахмала и масел обнаружено не было, увеличение массы семян происходило за счёт накопления белка.

Для выявления метаболических путей, лежащих в основе влияния зелёного света на качество семян, мы провели метаболомный анализ зародышей зрелых

семян гороха, сформировавшихся в модулях КС и КЗС. С использованием ГХ-МС обнаружено 143 первичных термостабильных метаболита, в том числе 17 аминокислот (включая 5 непротеиногенных: β -аланин, гомосерин, орнитин, γ -аминомасляную и пироглутаминовую кислоты), 14 органических кислот (гликолевая, винная, кислоты цикла Кребса, производные масляной кислоты), 68 углеводов (моно-, ди- и трисахариды, сахарофосфаты, сахароспирты, альдоновые кислоты), 6 фенольных соединений (в том числе 4 фенольные кислоты), 6 жирных кислот (пальмитиновая, линолевая, олеиновая и др.), 7 аминов (включая полиамины путресцин и спермидин), 2 стерола (кампестерол, ситостерол). С помощью ОФ-УВЭЖХ-МС обнаружено 89 первичных термолабильных метаболитов, в том числе 14 фосфорилированных сахаров и их производных (фруктозо-1,6-дифосфат, глицеральдегид-3-фосфат, седогептулозо-7-фосфат и др.), 26 нуклеотидов и нуклеозидов (гуанозин, аденозин, инозиновая кислота, НАДФ, производные АТФ и др.), 16 аминокислот, 18 органических кислот, а также пантотеновая кислота, глутатион, аллантаин и другие соединения.

С использованием метода главных компонент (МГК) были выявлены значительные различия в паттернах первичных метаболитов зародышей гороха в зависимости от условий освещения. Наибольший вклад в биохимические различия между вариантами внесли сахароза, раффиноза, яблочная, лимонная и изолимонная кислоты, мио-инозитол, АМФ, глутатион и глутатиондисульфид. При этом, содержание сахарозы, раффинозы и яблочной кислоты в варианте КЗС достоверно снижалось.

Под воздействием зелёного света значительно увеличилось содержание четырёх аминокислот: орнитина, триптофана, аргинина и аспарагиновой кислоты ($p \leq 0,02$, $FC \geq 1,7$). Из них аргинин является предшественником синтеза оксида азота и основной формой хранения и транспорта органического азота, а орнитин – предшественником биосинтеза аргинина и путресцина (продукта биосинтеза полиаминов). Кроме того, орнитин, аргинин и аспартат – ключевые метаболиты орнитинового цикла, в ходе которого утилизируются азотсодержащие соединения.

Таким образом, нами установлено, что зелёный свет играет важную роль при формировании плодов гороха. В отличие от красного и синего света, зелёный свет способен проникать к семядолям через ткани перикарпия и кожуры, стимулируя их фотохимическую активность. Это сопровождается тканеспецифичной модуляцией уровней транскрипции генов, связанных с активностью Рубиско. На метаболомном уровне воздействие зелёного света приводило к повышению в зрелых семенах содержания орнитина, аргинина и аспарагиновой кислоты, которые являются ключевыми метаболитами орнитинового цикла и предшественников полиаминов, а также увеличению массы семян и содержания белка.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что спектральный состав света, который проходит через перикарпий и кожуру и достигает формирующихся семядолей гороха, характеризуется отсутствием синего света, низкой долей красного света (1–2%) и высокой долей зелёного света.
2. Ткани перикарпия, кожуры и семядолей на ранней и средней стадиях созревания семян гороха содержат хлорофиллы и каротиноиды, уровень которых в среднем в 8 раз ниже, чем в листьях. Обогащение красно-синего спектра зелёными фотонами повышало содержание хлорофиллов в формирующихся семядолях в среднем в 1,8 раза на фоне увеличения отношений хлорофилла *b* к хлорофиллу *a* и каротиноидов к хлорофиллам.
3. Семядоли при красно-синем освещении находились в состоянии низкой фотохимической активности по сравнению с перикарпием и кожурой: максимальный квантовый выход (PHI_{Po}) был в 2 и 9 раз ниже в абаксиальной и адаксиальной областях семядолей, соответственно. Добавление зелёного света увеличивало показатель PHI_{Po} и индекс фотосинтетической производительности (PI_{ABS}) в адаксиальной области семядолей, тогда как удельный поток диссипации энергии (DIO/RC) снижался.
4. Установлено, что обогащение красно-синего спектра зелёными фотонами приводило к увеличению в формирующихся семядолях относительного уровня транскрипции гена *Cpn60a*, кодирующего α -субъединицу шаперонина Cpn60.
5. В зрелых семенах обогащение красно-синего спектра зелёными фотонами вызывало изменение профиля первичных метаболитов, характеризующееся увеличением содержания орнитина, аргинина и аспарагиновой кислоты, которые участвуют в орнитиновом цикле и биосинтезе полиаминов. При этом масса семян и содержание в них белка были выше при добавлении зеленого света.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беседин А. Г. Прима – новый сорт гороха овощного // Овощи России. – 2015. – № 3. – С. 96–97. doi:10.18619/2072-9146-2015-3-4-96-97.
2. Булда О. В., Рассадина В. В., Алексейчук Г. Н., Ламан Н. А. Спектрофотометрический метод определения содержания каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов в экстрактах семян растений // Физиология Растений. – 2008. – Т. 55. – №. 4. – С. 604-611.
3. Войцеховская О. В. Фитохромы и другие (фото)рецепторы информации у растений // Физиология Растений. – 2019. – Т. 66. – № 3. – С. 163–177. doi:10.1134/S0015330319030151.
4. Головацкая И. Ф., Карначук Р. А. Роль зеленого света в жизнедеятельности растений // Физиология Растений. – 2015. – Т. 62. – № 6. – С. 776–791. doi:10.7868/S0015330315060081.
5. Гольцев В. Н., Каладжи Х. М., Паунов М., Баба В. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология Растений. – 2016. – Т. 63. – № 6. – С. 881–907. doi:10.7868/S0015330316050055.
6. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – Введ. 1986-07-01. – Москва : Стандартинформ, 2011. – 59 с.
7. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П., Перуанский Ю. В., Луковникова Г. А., Иконникова М. И. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. — 430 с.
8. Жукова Г. Я. Пластиды гамет и зародыша цветковых растений / Г. Я. Жукова // Ботанический Журнал. – 1993. – Т. 78. – № 5. – С. 18–35.
9. Медведев С. С. Физиология растений: учебник для вузов / С. С. Медведев. – Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ, 2013. – 512 с.
10. Смоликова Г. Н., Ламан Н. А., Борискевич О. В. Роль хлорофиллов и каротиноидов в устойчивости семян к абиотическим стрессорам // Физиология Растений. – 2011. – Т. 58. – №. 6. – С. 817-825.

11. Смоликова Г. Н., Медведев С. С. Каротиноиды семян: синтез, разнообразие и функции // Физиология Растений. – 2015. – Т. 62. – №. 1. – С. 3-16. doi:10.7868/S0015330315010133.
12. Смоликова Г. Н., Медведев С. С. Фотосинтез в семенах хлороэмбриофитов // Физиология Растений. – 2016. – Т. 63. – №. 1. – С. 3-16. doi:10.7868/S0015330315060160.
13. Соловченко А. Е., Мерзляк М. Н. Экранирование видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты у растений // Физиология Растений. – 2008. – Т. 55. – №. 6. – С. 803-822.
14. Тихонов К. Г., Христин М. С., Климов В. В., Сундырева М. А. Структурные и функциональные особенности фотосинтетического аппарата хлорофилл-содержащих тканей виноградной лозы // Физиология Растений. – 2017. – Т. 64. – №. 1. – С. 69-80. doi:10.7868/S0015330316060117.
15. Чесноков В. А. Выращивание растений без почвы / В. А. Чесноков, Е. Н. Базырина, Т. М. Бушуева, Н. Л. Ильинская. – Ленинград: Изд-во Ленинградского ун-та, 1960. – 170 с.
16. Яковлев М. С. Покрытосеменные растения с зеленым и бесцветным зародышем [хлоро- и лейкоэмбриофиты] / М. С. Яковлев, Г. Я. Жукова. – Ленинград: Наука, 1973. – 124 с.
17. Aasamaa K., Aphalo P. J. Effect of vegetational shade and its components on stomatal responses to red, blue and green light in two deciduous tree species with different shade tolerance // Environmental and Experimental Botany. – 2016. – Т. 121. – С. 94-101. doi:10.1016/j.envexpbot.2015.01.004.
18. Abhijita S., Dalal V. K., Misra A. N. The effects of light quality and quantity on photosynthesis // A Closer Look at Photosynthesis; Dalal, VK, Misra, AN, Eds. – 2023. – С. 46-81. doi:10.52305/TOGT5511.
19. Allen D. K., Ohlrogge J. B., Shachar-Hill Y. The role of light in soybean seed filling metabolism // The Plant Journal. – 2009. – Т. 58. – №. 2. – С. 220-234. doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03771.x.

20. Alloreant G., Courtois F., Chevalier F., Lerbs-Mache S. Plastid gene expression during chloroplast differentiation and dedifferentiation into non-photosynthetic plastids during seed formation // *Plant Molecular Biology*. – 2013. – T. 82. – №. 1. – C. 59-70. doi:10.1007/s11103-013-0037-0.
21. Alloreant G., Osorio S., Ly Vu J., Falconet D. Adjustments of embryonic photosynthetic activity modulate seed fitness in *Arabidopsis thaliana* // *New Phytologist*. – 2015. – T. 205. – №. 2. – C. 707-719. doi:10.1111/nph.13044.
22. Amaral J., Lobo A. K. M., Carmo-Silva E. Regulation of Rubisco activity in crops // *New Phytologist*. – 2024. – T. 241. – №. 1. – C. 35-51. doi:10.1111/nph.19369.
23. Andersson I., Backlund A. Structure and function of Rubisco // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2008. – T. 46. – №. 3. – C. 275-291. doi:10.1016/j.plaphy.2008.01.001.
24. Anstis P. J. P., Northcote D. H. Development of chloroplasts from amyloplasts in potato tuber discs // *New Phytologist*. – 1973. – T. 72. – №. 3. – C. 449-463. doi:10.1111/j.1469-8137.1973.tb04394.x.
25. Araus J. L., Sanchez-Bragado R., Vicente R. Improving crop yield and resilience through optimization of photosynthesis: panacea or pipe dream? // *Journal of Experimental Botany*. – 2021. – T. 72. – №. 11. – C. 3936-3955. doi:10.1093/jxb/erab097.
26. Aschan G., Pfanz H. Non-foliar photosynthesis—a strategy of additional carbon acquisition // *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. – 2003. – T. 198. – №. 2. – C. 81-97. doi:10.1078/0367-2530-00080.
27. Asokanthan P. S., Johnson R. W., Griffith M., Król M. The photosynthetic potential of canola embryos // *Physiologia Plantarum*. – 1997. – T. 101. – №. 2. – C. 353-360. doi:10.1034/j.1399-3054.1997.1010215.x.
28. Avendaño-Abarca V. H., Alvarado-Camarillo D., Valdez-Aguilar L. A., Sánchez-Ortíz E. A., González-Fuentes J. A., Cartmill A. D. Response of strawberry to the substitution of blue light by green light in an indoor vertical farming system // *Agronomy*. – 2022. – T. 13. – №. 1. – C. 99. doi:10.3390/agronomy13010099.

29. Ávila E., Herrera A., Tezara W. Contribution of stem CO₂ fixation to whole-plant carbon balance in nonsucculent species // *Photosynthetica*. – 2014. – T. 52. – №. 1. – C. 3-15. doi:10.1007/s11099-014-0004-2.
30. Ávila-Lovera E., Zerpa A. J., Santiago L. S. Stem photosynthesis and hydraulics are coordinated in desert plant species // *New Phytologist*. – 2017. – T. 216. – №. 4. – C. 1119-1129. doi:10.1111/nph.14737.
31. Banerjee R., Schleicher E., Meier S., Viana R. The signaling state of *Arabidopsis* cryptochrome 2 contains flavin semiquinone // *Journal of Biological Chemistry*. – 2007. – T. 282. – №. 20. – C. 14916-14922. doi:10.1074/jbc.M700616200.
32. Bantis F., Ouzounis T., Radoglou K. Artificial LED lighting enhances growth characteristics and total phenolic content of *Ocimum basilicum*, but variably affects transplant success // *Scientia Horticulturae*. – 2016. – T. 198. – C. 277-283. doi:10.1016/j.scienta.2015.11.014.
33. Bao X., Pollard M., Ohlrogge J. The biosynthesis of erucic acid in developing embryos of *Brassica rapa* // *Plant Physiology*. – 1998. – T. 118. – №. 1. – C. 183-190. doi:10.1104/pp.118.1.183.
34. Bartley G. E., Scolnik P. A. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health // *The Plant Cell*. – 1995. – T. 7. – №. 7. – C. 1027. doi:10.2307/3870055.
35. Battle M. W., Jones M. A. Cryptochromes integrate green light signals into the circadian system // *Plant, Cell & Environment*. – 2020. – T. 43. – №. 1. – C. 16-27. doi:10.1111/pce.13643.
36. Belmonte M. F., Kirkbride R. C., Stone S. L., Pelletier J. M. Comprehensive developmental profiles of gene activity in regions and subregions of the *Arabidopsis* seed // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – T. 110. – №. 5. – C. E435-E444. doi:10.1073/pnas.1222061110.
37. Bewley J. D., Black M. *Seeds: physiology of development and germination*. – New York : Springer Science & Business Media, 2013. – 392 c. doi: 10.1007/978-1-4899-1002-8.

38. Bian W., Barsan C., Egea I., Purgatto E. Metabolic and molecular events occurring during chromoplast biogenesis // *Journal of Botany*. – 2011. – T. 2011. – №. 1. – C. 289859. doi:10.1155/2011/289859.
39. Bian Z., Wang Y., Zhang X., Grundy S. A transcriptome analysis revealing the new insight of green light on tomato plant growth and drought stress tolerance // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – T. 12. – C. 649283. doi:10.3389/fpls.2021.649283.
40. Björn L. O., Shevela D., Govindjee G. What is photosynthesis? —A broader and inclusive view // *A Closer Look at Photosynthesis*. – 2023. – C. 1-22. doi:10.4135/9781452229669.n742.
41. Blankenship R. E. *Molecular Mechanisms of Photosynthesis* / R. E. Blankenship; ed. R. E. Blankenship. – Oxford: Blackwell Science Ltd, 2002. – C. 300. doi:10.1002/9780470758472.
42. Borisjuk L., Neuberger T., Schwender J., Heinzl N. Seed architecture shapes embryo metabolism in oilseed rape // *The Plant Cell*. – 2013. – T. 25. – №. 5. – C. 1625-1640. doi:10.1105/tpc.113.111740.
43. Borisjuk L., Nguyen H. T., Neuberger T., Rutten T. Gradients of lipid storage, photosynthesis and plastid differentiation in developing soybean seeds // *New Phytologist*. – 2005. – T. 167. – №. 3. – C. 761-776. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01474.x.
44. Borisjuk L., Rolletschek H. The oxygen status of the developing seed // *New Phytologist*. – 2009. – T. 182. – №. 1. – C. 17-30. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02752.x.
45. Borisjuk L., Rolletschek H., Walenta S., Panitz R., Wobus U., Weber H. Energy status and its control on embryogenesis of legumes: ATP distribution within *Vicia faba* embryos is developmentally regulated and correlated with photosynthetic capacity // *The Plant Journal*. – 2003. – T. 36. – №. 3. – C. 318-329. doi:10.1046/j.1365-313X.2003.01879.x.
46. Bracher A., Whitney S. M., Hartl F. U., Hayer-Hartl M. Biogenesis and metabolic maintenance of Rubisco // *Annual Review of Plant Biology*. – 2017. – T. 68. – C. 29-60. doi:10.1146/annurev-arplant-043015-111633.

47. Brazel A. J., Ó'Maoiléidigh D. S. Photosynthetic activity of reproductive organs // *Journal of Experimental Botany*. – 2019. – T. 70. – №. 6. – C. 1737-1754. doi:10.1093/jxb/erz033.
48. Bréhélin C., Kessler F. The plastoglobule: a bag full of lipid biochemistry tricks // *Photochemistry and Photobiology*. – 2008. – T. 84. – №. 6. – C. 1388-1394.
49. Britton G. Biosynthesis of carotenoids // *Carotenoids in Photosynthesis*. – Dordrecht : Springer Netherlands, 1993. – C. 96-126. doi:10.1007/978-94-011-2124-8_4.
50. Britton G. Carotenoids: nutrition and health / G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander; ed. H. Pfander. – Springer Science & Business Media, 2009. – T. 5. doi:10.1007/978-3-7643-7499-0.
51. Brodersen C. R., Vogelmann T. C. Do epidermal lens cells facilitate the absorptance of diffuse light? // *American Journal of Botany*. – 2007. – T. 94. – №. 7. – C. 1061-1066. doi:10.3732/ajb.94.7.1061.
52. Burgie E. S., Vierstra R. D. Phytochromes: an atomic perspective on photoactivation and signaling // *The Plant Cell*. – 2014. – T. 26. – №. 12. – C. 4568-4583. doi:10.1105/tpc.114.131623.
53. Cackett L., Luginbuehl L., Schreier T. B., Lopez-Juez E. Chloroplast development in green plant tissues: the interplay between light, hormone, and transcriptional regulation // *New Phytologist*. – 2022. – T. 233. – №. 5. – C. 2000-2016. doi:10.1111/nph.17839.
54. Carmo-Silva E., Scales J. C., Madgwick P. J., Parry M. A. J. Optimizing Rubisco and its regulation for greater resource use efficiency // *Plant, Cell & Environment*. – 2015. – T. 38. – №. 9. – C. 1817-1832. doi:10.1111/pce.12425.
55. Carvalho M. E. A., Labate C., Silva C. B., Castro P. R. C. Seed photorespiration: a perspective review // *Plant Growth Regulation*. – 2022. – T. 97. – №. 3. – C. 477-484. doi:10.1007/s10725-022-00824-x.
56. Casal J. J. Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade // *Annual Review of Plant Biology*. – 2013. – T. 64. – C. 403-427. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120221.
57. Casal J. J. Shade avoidance // *The Arabidopsis book* / American Society of Plant Biologists. – 2012. – T. 10. – C. e0157. doi:10.1199/tab.0157.

58. Casal J. J., Candia A. N., Sellaro R. Light perception and signalling by phytochrome A // *Journal of Experimental Botany*. – 2014. – T. 65. – №. 11. – C. 2835-2845. doi:10.1093/jxb/ert379.
59. Černý M., Doubnerová V., Müller K., Ryšlavá H. Characterization of phosphoenolpyruvate carboxylase from mature maize seeds: Properties of phosphorylated and dephosphorylated forms // *Biochimie*. – 2010. – T. 92. – №. 10. – C. 1362-1370. doi:10.1016/j.biochi.2010.06.019.
60. Chen D., Shao Q., Yin L., Younis A. Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses // *Frontiers in Plant Science*. – 2019a. – T. 9. – C. 1945. doi:10.3389/fpls.2018.01945.
61. Chen L., Yang Y., Jiang Y., Zhao J., Zang H., Wang X., Hu Y., Xue X. RNA-Seq analysis reveals differential responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets cultured in vitro to red, blue, green, and white light-emitting diodes (LEDs) // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2019b. – T. 38. – №. 4. – C. 1412-1427. doi:10.1007/s00344-019-09944-7.
62. Chen L., Zhang K., Gong X., Wang H., Gao Y., Wang X., Zeng Z., Hu Y. Effects of different LEDs light spectrum on the growth, leaf anatomy, and chloroplast ultrastructure of potato plantlets in vitro and minituber production after transplanting in the greenhouse // *Journal of Integrative Agriculture*. – 2020. – T. 19. – №. 1. – C. 108-119. doi:10.1016/S2095-3119(19)62633-X.
63. Chen Y., Bian Z., Marcelis L.F.M., Heuvelink E., Yang Q., Kaiser E. Green light is similarly effective in promoting plant biomass as red/blue light: a meta-analysis // *Journal of Experimental Botany*. – 2024. – T. 75. – №. 18. – C. 5655-5666. doi:10.1093/jxb/erae259.
64. Cho Y. B., Stutz S. S., Jones S. I., Wang Y., Pelech E. A., Ort D. R. Impact of pod and seed photosynthesis on seed filling and canopy carbon gain in soybean // *Plant Physiology*. – 2023. – T. 193. – №. 2. – C. 966-979. doi:10.1093/plphys/kiad324.
65. Chow W. S., Anderson J. M., Melis A. The photosystem stoichiometry in thylakoids of some Australian shade-adapted plant species // *Australian Journal of Plant Physiology*. – 1990. – T. 17. – №. 6. – C. 665-674. doi:10.1071/PP9900665.

66. Christie J. M., Christie J. M., Blackwood L., Petersen J., Sullivan S. Plant flavoprotein photoreceptors // *Plant and Cell Physiology*. – 2015. – T. 56. – №. 3. – C. 401-413. doi:10.1093/pcp/pcu196.
67. Claypool N. B., Lieth J. H. Green light improves photosystem stoichiometry in cucumber seedlings (*Cucumis sativus*) compared to monochromatic red light // *Plants*. – 2021. – T. 10. – №. 5. – C. 824. doi:10.3390/plants10050824.
68. Coolbear P., Francis A., Grierson D. The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and membrane integrity of artificially aged tomato seeds // *Journal of Experimental Botany*. – 1984. – T. 35. – №. 11. – C. 1609-1617. doi:10.1093/jxb/35.11.1609.
69. Ćujić Nikolić N., Mutavski Z., Šavikin K., Živković J., Pavlović S., Jones P., Copperstone C., Can Aytar E., Aydin B., Van Bavegem E., Kunili I.E., Özmen Ö., Küşümler A.S., Unal D.O., Gunduz S., Lara S.W., Akin M., Orahovac A., Balázs B., Milešević J., Sîrbu A., Negrão S., Knez M. Peas, natural resources for a sustainable future: a multifaceted review of nutritional, health, environmental, and market perspectives // *Frontiers in Nutrition*. – 2025. – T. 12. – C. 1703760. doi:10.3389/fnut.2025.1703760.
70. Dalal V. K. A Closer Look at Photosynthesis / V. K. Dalal, A. N. Misra; edited by V. K. Dalal, A. N. Misra. – New York, NY: Nova Science Publishers, Inc., 2023. – C. 322. doi:10.52305/TOGT5511.
71. de Ruiter H., Kollöffel C. Arginine catabolism in the cotyledons of developing and germinating pea seeds // *Plant Physiology*. – 1983. – T. 73. – №. 3. – C. 525-528. doi:10.1104/pp.73.3.525.
72. Demetriou G., Neonaki C., Navakoudis E., Kotzabasis K. Salt stress impact on the molecular structure and function of the photosynthetic apparatus—the protective role of polyamines // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2007. – T. 1767. – №. 4. – C. 272-280. doi:10.1016/j.bbabbio.2007.02.020.
73. Donohue K., Pyle E. H., Messiqua D., Heschel M. S., Schmitt J. Adaptive divergence in plasticity in natural populations of *Impatiens capensis* and its consequences

- for performance in novel habitats // *Evolution*. – 2001. – T. 55. – №. 4. – C. 692-702. doi:10.1111/j.0014-3820.2001.tb00805.x.
74. Dou H., Niu G., Gu M. Photosynthesis, morphology, yield, and phytochemical accumulation in basil plants influenced by substituting green light for partial red and/or blue light // *HortScience*. – 2019. – T. 54. – №. 10. – C. 1769-1776. doi:10.21273/HORTSCI14282-19.
75. Eastmond P., Koláčá L., Rawsthorne S. Photosynthesis by developing embryos of oilseed rape (*Brassica napus* L.) // *Journal of Experimental Botany*. – 1996. – T. 47. – №. 11. – C. 1763-1769. doi:10.1093/jxb/47.11.1763.
76. Egea I., Bian W., Barsan C., Jauneau A., Pech J. C., Latché A., Li Z., Chervin C. Chloroplast to chromoplast transition in tomato fruit: spectral confocal microscopy analyses of carotenoids and chlorophylls in isolated plastids and time-lapse recording on intact live tissue // *Annals of Botany*. – 2011. – T. 108. – №. 2. – C. 291-297. doi:10.1093/aob/mcr140.
77. Elias E., Oliver T. J., Croce R. Oxygenic photosynthesis in far-red light: strategies and mechanisms // *Annual Review of Physical Chemistry*. – 2024. – T. 75. – №. 2024. – C. 231-256. doi:10.1146/annurev-physchem-090722-125847.
78. Eveland A. L., Jackson D. P. Sugars, signalling, and plant development // *Journal of Experimental Botany*. – 2012. – T. 63. – №. 9. – C. 3367-3377. doi:10.1093/jxb/err379.
79. Fait A., Angelovici R., Less H., Ohad I., Urbanczyk-Wochniak E., Fernie A. R., Galili G. *Arabidopsis* seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches // *Plant Physiology*. – 2006. – T. 142. – №. 3. – C. 839-854. doi:10.1104/pp.106.086694.
80. Falconet D. Origin, evolution and division of plastids // *Photosynthesis: plastid biology, energy conversion and carbon assimilation*. – Dordrecht: Springer Netherlands, 2011. – C. 35-61. doi:10.1007/978-94-007-1579-0_2.
81. Fan X. X., Xu Z. G., Liu X. Y., Tang C. M., Wang L. W., Han X. L. Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light // *Scientia Horticulturae*. – 2013. – T. 153. – C. 50-55. doi:10.1016/j.scienta.2013.01.017.

82. Feria A. B., Alvarez R., Cochereau L., Vidal J., García-Mauriño S., Echevarría C. Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase phosphorylation by metabolites and abscisic acid during the development and germination of barley seeds // *Plant Physiology*. – 2008. – T. 148. – №. 2. – C. 761-774. doi:10.1104/pp.108.124982.
83. Fernández-Marín B., Míguez F., Méndez-Fernández L., Agut A., Becerril J. M., García-Plazaola J. I., Kranner I., Colville L. Seed carotenoid and tocochromanol composition of wild Fabaceae species is shaped by phylogeny and ecological factors // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – T. 8. – C. 1428. doi:10.3389/fpls.2017.01428.
84. Flahault M. C. Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits a l'influence de la lumière // *Bulletin de la Société Botanique de France*. – 1879. – T. 26. – №. 6. – C. 249-255. doi:10.1080/00378941.1879.10825779.
85. Folta K. M., Maruhnich S. A. Green light: a signal to slow down or stop // *Journal of Experimental Botany*. – 2007. – T. 58. – №. 12. – C. 3099-3111. doi:10.1093/jxb/erm130.
86. Franklin K. A. Shade avoidance // *New Phytologist*. – 2008. – T. 179. – №. 4. – C. 930-944. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x.
87. Fratianni A., Irano M., Panfili G., Acquistucci R. Estimation of color of durum wheat. Comparison of WSB, HPLC, and reflectance colorimeter measurements // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2005. – T. 53. – №. 7. – C. 2373-2378. doi:10.1021/jf040351n.
88. Fujii Y., Tanaka H., Konno N., Ogasawara Y., Hamashima N., Tamura S., Hasegawa S., Hayasaki Y., Okajima K., Kodama Y. Phototropin perceives temperature based on the lifetime of its photoactivated state // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – T. 114. – №. 34. – C. 9206-9211. doi:10.1073/pnas.1704462114.
89. Furbank R. T., White R., Palta J. A., Turner N. C. Internal recycling of respiratory CO₂ in pods of chickpea (*Cicer arietinum* L.): the role of pod wall, seed coat, and embryo // *Journal of Experimental Botany*. – 2004. – T. 55. – №. 403. – C. 1687-1696. doi:10.1093/jxb/erh190.

90. Galili G., Avin-Wittenberg T., Angelovici R., Fernie A. R. The role of photosynthesis and amino acid metabolism in the energy status during seed development // *Frontiers in Plant Science*. – 2014. – T. 5. – C. 447. doi:10.3389/fpls.2014.00447.
91. Garrido A., Conde A., Serôdio J., De Vos R. C. H., Cunha A. Fruit photosynthesis: more to know about where, how and why // *Plants*. – 2023. – T. 12. – №. 13. – C. 2393. doi:10.3390/plants12132393.
92. Goffman F. D., Ruckle M., Ohlrogge J., Shachar-Hill Y. Carbon dioxide concentrations are very high in developing oilseeds // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2004. – T. 42. – №. 9. – C. 703-708. doi:10.1016/j.plaphy.2004.07.003.
93. Goggin D. E., Steadman K. J. Blue and green are frequently seen: responses of seeds to short-and mid-wavelength light // *Seed Science Research*. – 2012. – T. 22. – №. 1. – C. 27-35. doi:10.1017/S0960258511000444.
94. Gomez C., Morrow R. C., Bourget C. M., Massa G. D., Mitchell C. A. Comparison of intracanopy light-emitting diode towers and overhead high-pressure sodium lamps for supplemental lighting of greenhouse-grown tomatoes // *HortTechnology*. – 2013. – T. 23. – №. 1. – C. 93-98. doi:10.21273/horttech.23.1.93.
95. Gonçalves B., Correia C. M., Silva A. P., Bacelar E. A., Santos A., Moutinho-Pereira J. M. Leaf structure and function of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.) cultivars with open and dense canopies // *Scientia Horticulturae*. – 2008. – T. 116. – №. 4. – C. 381-387. doi:10.1016/j.scienta.2008.02.013.
96. Gondor O. K., Tajti J., Hamow K. Á., Majláth I., Szalai G., Janda T., Pál M. Polyamine metabolism under different light regimes in wheat // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – T. 22. – №. 21. – C. 11717. doi:10.3390/ijms222111717.
97. Grulichova M., Sedlakova V., Trojan V., Hanacek P., Vyhnánek T. Correlation of photosynthetic pigments content with indicators of seed quality in the seeds of carrot, celery, dill, parsley, and parsnip // *Journal of Seed Science*. – 2022. – T. 44. – C. e202244031. doi:10.1590/2317-1545v44260767.
98. Gryaznova U. V., Yanykin D. V., Khristin M. S., Pigolev A. V., Ashikhmin A. A., Savchenko T. V., Sundyreva M. A. Activity and Stress Tolerance of Nonfoliar Photosynthetic Apparatus of Grape Shoots during the Period of Active Vegetation //

- Russian Journal of Plant Physiology. – 2025. – T. 72. – №. 7. – C. 250. doi:10.1134/S1021443725603945.
99. Guitián J., Larrinaga A. R. The role of post-floral persistent perianth in *Helleborus viridis* subsp. *occidentalis* (Ranunculaceae) // Nordic Journal of Botany. – 2014. – T. 32. – №. 6. – C. 852-857. doi:10.1111/njb.00523.
100. Hao Y., Zeng Z., Zhang X., Xie D., Li X., Ma L., Liu M., Liu H. Green means go: Green light promotes hypocotyl elongation via brassinosteroid signaling // The Plant Cell. – 2023. – T. 35. – №. 5. – C. 1304-1317. doi:10.1093/plcell/koad022.
101. Hashimoto H., Urugami C., Cogdell R. J. Carotenoids and photosynthesis // Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function. – 2016. – C. 111-139. doi:10.1007/978-3-319-39126-7_4.
102. Henry R. J., Furtado A., Rangan P. Pathways of photosynthesis in non-leaf tissues // Biology. – 2020. – T. 9. – №. 12. – C. 438. doi:10.3390/biology9120438.
103. Hentschel V., Kranl K., Hollmann J., Lindhauer M. G., Böhm V., Bitsch R. Spectrophotometric determination of yellow pigment content and evaluation of carotenoids by high-performance liquid chromatography in durum wheat grain // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2002. – T. 50. – №. 23. – C. 6663-6668. doi:10.1021/jf025701p.
104. Heredia M. R., Hanke G. Measuring photosynthetic electron transport in green developing seeds // Seed Science Research. – 2026. – C. 1-10. doi:10.1017/S0960258526100105.
105. Hibberd J. M., Quick W. P. Characteristics of C₄ photosynthesis in stems and petioles of C₃ flowering plants // Nature. – 2002. – T. 415. – №. 6870. – C. 451-454. doi:10.1038/415451a.
106. Hills M. J. Control of storage-product synthesis in seeds // Current Opinion in Plant Biology. – 2004. – T. 7. – №. 3. – C. 302-308. doi:10.1016/j.pbi.2004.03.003.
107. Holmes M. G., Smith H. The function of phytochrome in the natural environment—II. The influence of vegetation canopies on the spectral energy distribution of natural daylight // Photochemistry and Photobiology. – 1977. – T. 25. – №. 6. – C. 539-545. doi:10.1111/j.1751-1097.1977.tb09125.x.

108. Howitt C. A., Pogson B. J. Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues // *Plant, Cell & Environment*. – 2006. – T. 29. – №. 3. – C. 435-445. doi:10.1111/j.1365-3040.2005.01492.x.
109. Hu Y., Zhang Y., Yu W., Hänninen H., Song L., Du X., Zhang R., Wu J. Novel insights into the influence of seed sarcotesta photosynthesis on accumulation of seed dry matter and oil content in *Torreya grandis* cv. «Merrillii» // *Frontiers in Plant Science*. – 2018. – T. 8. – C. 2179. doi:10.3389/fpls.2017.02179.
110. Ingram G., North H., Lepiniec L. Seeds as perfect factories for developing sustainable agriculture // *Plant Reproduction*. – 2018. – T. 31. – №. 3. – C. 201-202. doi:10.1007/s00497-018-0340-7.
111. Ioannidis N. E., Kotzabasis K. Effects of polyamines on the functionality of photosynthetic membrane in vivo and in vitro // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2007. – T. 1767. – №. 12. – C. 1372-1382. doi:10.1016/j.bbambio.2007.10.002.
112. Izzo L. G., Hay Mele B., Vitale L., Vitale E., Arena C. The role of monochromatic red and blue light in tomato early photomorphogenesis and photosynthetic traits // *Environmental and Experimental Botany*. – 2020. – T. 179. – C. 104195. doi:10.1016/j.envexpbot.2020.104195.
113. Jahns P., Holzwarth A. R. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2012. – T. 1817. – №. 1. – C. 182-193. doi:10.1016/j.bbambio.2011.04.012.
114. Ji Y., Ouzounis T., Courbier S., Kaiser E., Nguyen P. T., Schouten H. J., Visser R. G. F., Pierik R., Marcelis L. F. M., Heuvelink E. Far-red radiation increases dry mass partitioning to fruits but reduces *Botrytis cinerea* resistance in tomato // *Environmental and Experimental Botany*. – 2019. – T. 168. – C. 103889. doi:10.1016/j.envexpbot.2019.103889.
115. Johnson R. W., Asokanthan P. S., Griffith M. Water and sucrose regulate canola embryo development // *Physiologia Plantarum*. – 1997. – T. 101. – №. 2. – C. 361-366.

116. Kaiser E., Weerheim K., Schipper R., Dieleman J. A. Partial replacement of red and blue by green light increases biomass and yield in tomato // *Scientia Horticulturae*. – 2019. – T. 249. – C. 271-279. doi:10.1016/j.scienta.2019.02.005.
117. Kalaitzoglou P., van Ieperen W., Harbinson J., van der Meer M., Martinakos S., Weerheim K., Nicole C. C. S., Marcelis L. F. M. Effects of continuous or end-of-day far-red light on tomato plant growth, morphology, light absorption, and fruit production // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – T. 10. – C. 322. doi:10.3389/fpls.2019.00322.
118. Kang C., Zhang Y., Cheng R., Kaiser E., Yang Q., Li T. Acclimating cucumber plants to blue supplemental light promotes growth in full sunlight // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. – T. 12. – C. 782465. doi:10.3389/fpls.2021.782465.
119. Kendrick R. E., Russell J. H. Photomanipulation of phytochrome in lettuce seeds // *Plant Physiology*. – 1975. – T. 56. – №. 2. – C. 332-334. doi:10.1104/pp.56.2.332.
120. Kim S. R., Yang J. I. I., An G. *OsCpn60α1*, encoding the plastid chaperonin 60α subunit, is essential for folding of rbcL // *Molecules and Cells*. – 2013. – T. 35. – №. 5. – C. 402-409. doi:10.1007/s10059-013-2337-2.
121. King S. P., Badger M. R., Furbank R. T. CO₂ refixation characteristics of developing canola seeds and silique wall // *Australian Journal of Plant Physiology*. – 1998. – T. 25. – №. 3. – C. 377-386. doi:10.1071/PP97157.
122. Knopkiewicz M., Wojtaszek P. Validation of reference genes for gene expression analysis using quantitative polymerase chain reaction in pea lines (*Pisum sativum*) with different lodging susceptibility // *Annals of Applied Biology*. – 2019. – T. 174. – №. 1. – C. 86-91. doi:10.1111/aab.12475.
123. Kono M., Kawaguchi H., Mizusawa N., Yamori W., Suzuki Y., Terashima I. Far-red light accelerates photosynthesis in the low-light phases of fluctuating light // *Plant and Cell Physiology*. – 2020. – T. 61. – №. 1. – C. 192-202. doi:10.1093/pcp/pcz191.
124. Kremnev D., Strand Å. Plastid encoded RNA polymerase activity and expression of photosynthesis genes required for embryo and seed development in *Arabidopsis* // *Frontiers in Plant Science*. – 2014. – T. 5. – C. 385. doi:10.3389/fpls.2014.00385.
125. Kreslavski V. D., Los D. A., Schmitt F.-J., Zharmukhamedov S. K., Kuznetsov V. V., Allakhverdiev S. I. The impact of the phytochromes on photosynthetic processes //

Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2018. – T. 1859. – №. 5. – C. 400-408. doi:10.1016/j.bbabi.2018.03.003.

126. Kudo R., Ishida Y., Yamamoto K. Effects of green light irradiation on induction of disease resistance in plants // VI International Symposium on Light in Horticulture. – 2009. – T. 907. – C. 251-254. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.907.39.

127. Kume A. Importance of the green color, absorption gradient, and spectral absorption of chloroplasts for the radiative energy balance of leaves // Journal of Plant Research. – 2017. – T. 130. – №. 3. – C. 501-514. doi:10.1007/s10265-017-0910-z.

128. Kume A., Akitsu T., Nasahara K. N. Why is chlorophyll *b* only used in light-harvesting systems? // Journal of Plant Research. – 2018. – T. 131. – №. 6. – C. 961-972. doi:10.1007/s10265-018-1052-7.

129. Lara Ayala I., Belge B., Goulao L. F. A focus on the biosynthesis and composition of cuticle in fruits // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2015. T. 63. doi:10.1021/acs.jafc.5b00013.

130. Lastdrager J., Hanson J., Smeekens S. Sugar signals and the control of plant growth and development // Journal of Experimental Botany. – 2014. – T. 65. – №. 3. – C. 799-807. doi:10.1093/jxb/ert474.

131. Lauria G., Ceccanti C., Lo Piccolo E., El Horri H., Guidi L., Lawson T., Landi M. «Metabolight»: how light spectra shape plant growth, development and metabolism // Physiologia Plantarum. – 2024. – T. 176. – №. 6. – C. e14587. doi:10.1111/ppl.14587.

132. Lawson T., Kramer D. M., Raines C. A. Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis // Current Opinion in Biotechnology. – 2012. – T. 23. – №. 2. – C. 215-220. doi:10.1016/j.copbio.2011.12.012.

133. Lawson T., Milliken A. L. Photosynthesis—beyond the leaf // New Phytologist. – 2023. – T. 238. – №. 1. – C. 55-61. doi:10.1111/nph.18671.

134. Le B. H., Cheng C., Bui A. Q., Wagmaister J. A., Henry K. F., Pelletier J., Kwong L., Belmonte M., Kirkbride R., Horvath S., Drews G. N., Fischer R. L., Okamuro J. K., Harada J. J., Goldberg R. B. Global analysis of gene activity during *Arabidopsis* seed development and identification of seed-specific transcription factors // Proceedings of the

- National Academy of Sciences. – 2010. – T. 107. – №. 18. – C. 8063-8070. doi:10.1073/pnas.1003530107.
135. Leister D. Chloroplast research in the genomic age // *TRENDS in Genetics*. – 2003. – T. 19. – №. 1. – C. 47-56. doi:10.1016/S0168-9525(02)00003-3.
136. Leister D. Enhancing the light reactions of photosynthesis: Strategies, controversies, and perspectives // *Molecular Plant*. – 2023. – T. 16. – №. 1. – C. 4-22. doi:10.1016/j.molp.2022.08.005.
137. Leonardos E. D., Rauf S. A., Weraduwege S. M., Marillia E.-F., Taylor D. C., Micallef B. J., Grodzinski B. Photosynthetic capacity of the inflorescence is a major contributor to daily-C-gain and the responsiveness of growth to elevated CO₂ in *Arabidopsis thaliana* with repressed expression of mitochondrial-pyruvate-dehydrogenase-kinase // *Environmental and Experimental Botany*. – 2014. – T. 107. – C. 84-97. doi:10.1016/j.envexpbot.2014.05.007.
138. Li Q., Sun X., Tan W., Liang Y., Cao H., Wang D. Rubisco activase alleviates adverse effects of *Nilaparvata lugens* feeding on photosynthesis in *Oryza sativa* // *Arthropod-Plant Interactions*. – 2024a. – T. 18. – №. 2. – C. 211-226. doi:10.1007/s11829-023-10021-w.
139. Li X., Zhao S., Cao Q., Qiu C., Yang Y., Zhang G., Wu Y., Yang Z. Effect of green light replacing some red and blue light on *Cucumis melo* under drought stress // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024b. – T. 25. – №. 14. – C. 7561. doi:10.3390/ijms25147561.
140. Li Z., Guo Z., Wu G., Guo J., Jiang B., Yue Y. Green light alone sustains the complete soybean life cycle // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2026. – C. 113370. doi:10.1016/j.jphotobiol.2026.113370.
141. Lichtenthaler H. K. [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods in enzymology*. – Academic Press, 1987. – T. 148. – C. 350-382. doi:10.1016/0076-6879(87)48036-1.
142. Lichtenthaler H. K., Babani F. Contents of photosynthetic pigments and ratios of chlorophyll *a/b* and chlorophylls to carotenoids ($(a + b)/(x + c)$) in C₄ plants as compared to C₃ plants // *Photosynthetica*. – 2021. – T. 60. – №. 1. – C. 3. doi:10.32615/ps.2021.041.

143. Lichtenthaler H. K., Babani F., Navrátil M., Buschmann C. Chlorophyll fluorescence kinetics, photosynthetic activity, and pigment composition of blue-shade and half-shade leaves as compared to sun and shade leaves of different trees // *Photosynthesis Research*. – 2013. – T. 117. – №. 1. – C. 355-366. doi:10.1007/s11120-013-9834-1.
144. Lichtenthaler H. K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. – 2001. – T. 1. – №. 1. – C. F4.3.1-F4.3.8. doi:10.1002/0471142913.faf0403s01.
145. Liebers M., Grübler B., Chevalier F., Lerbs-Mache S., Merendino L., Blanvillain R., Pfannschmidt T. Regulatory shifts in plastid transcription play a key role in morphological conversions of plastids during plant development // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – T. 8. – C. 23. doi:10.3389/fpls.2017.00023.
146. Lindgren L. O., Stålberg K. G., Hoglund A. S. Seed-specific overexpression of an endogenous *Arabidopsis* phytoene synthase gene results in delayed germination and increased levels of carotenoids, chlorophyll, and abscisic acid // *Plant Physiology*. – 2003. – T. 132. – №. 2. – C. 779-785. doi:10.1104/pp.102.017053.
147. Liu H., Wang X., Ren K., Li K., Wei M., Wang W., Sheng X. Light deprivation-induced inhibition of chloroplast biogenesis does not arrest embryo morphogenesis but strongly reduces the accumulation of storage reserves during embryo maturation in *Arabidopsis* // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – T. 8. – C. 1287. doi:10.3389/fpls.2017.01287.
148. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method // *Methods*. – 2001. – T. 25. – №. 4. – C. 402-408. doi:10.1006/meth.2001.1262.
149. Lopez-Juez E., Pyke K. A. Plastids unleashed: their development and their integration in plant development // *International Journal of Developmental Biology*. – 2005. – T. 49. – №. 5/6. – C. 557. doi:10.1387/ijdb.051997el.
150. Lv X., Gao S., Li N., Lv Y., Chen Z., Cao B., Xu K. Comprehensive insights into the influence of supplemental green light on the photosynthesis of ginger (*Zingiber*

officinale Roscoe) // Protoplasma. – 2022. – T. 259. – №. 6. – C. 1477-1491. doi:10.1007/s00709-022-01748-z.

151. Lv Y., Shao G., Jiao G., Sheng Z., Xie L., Hu S., Tang S., Wei X., Hu P. Targeted mutagenesis of POLYAMINE OXIDASE 5 that negatively regulates mesocotyl elongation enables the generation of direct-seeding rice with improved grain yield // Molecular Plant. – 2021. – T. 14. – №. 2. – C. 344-351. doi:10.1016/j.molp.2020.11.007.

152. Lysenko V., Rajput V. D., Singh R. K., Guo Y., Kosolapov A., Usova E., Varduny T., Chalenko E., Yadronova O., Dmitriev P., Zaruba T. Chlorophyll fluorometry in evaluating photosynthetic performance: key limitations, possibilities, perspectives and alternatives // Physiology and Molecular Biology of Plants. – 2022. – T. 28. – №. 11. – C. 2041-2056. doi:10.1007/s12298-022-01263-8.

153. Ma Y., Hu L., Wu Y., Tang Z., Xiao X., Lyu J., Xie J., Yu J. Green light partial replacement of red and blue light improved drought tolerance by regulating water use efficiency in cucumber seedlings // Frontiers in Plant Science. – 2022. – T. 13. – C. 878932. doi:10.3389/fpls.2022.878932.

154. Maoka T. Carotenoids as natural functional pigments // Journal of Natural Medicines. – 2020. – T. 74. – №. 1. – C. 1-16. doi:10.1007/s11418-019-01364-x.

155. Martínez-Barajas E., Molina-Galán J., de JIMÉNEZ E. S. Regulation of Rubisco activity during grain-fill in maize: possible role of Rubisco activase // The Journal of Agricultural Science. – 1997. – T. 128. – №. 2. – C. 155-161. doi:10.1017/S002185969600408X.

156. Mattana E., Ulian T., Pritchard H. W. Seeds as natural capital // Trends in Plant Science. – 2022. – T. 27. – №. 2. – C. 139-146. doi: 10.1016/j.tplants.2021.08.008.

157. Matus Z., Molnár P., Szabó L. G. Main carotenoids in pressed seeds (*Cucurbitae semen*) of oil pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. *pepo* var. *styriaca*) // Acta Pharmaceutica Hungarica. – 1993. – T. 63. – №. 5. – C. 247-256.

158. Meloni M., Gurrieri L., Fermani S., Velie L., Sparla F., Crozet P., Henri J., Zaffagnini M. Ribulose-1,5-bisphosphate regeneration in the Calvin-Benson-Bassham cycle: Focus on the last three enzymatic steps that allow the formation of Rubisco

- substrate // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – T. 14. – C. 1130430. doi: 10.3389/fpls.2023.1130430.
159. Meng Q., Kelly N., Runkle E. S. Substituting green or far-red radiation for blue radiation induces shade avoidance and promotes growth in lettuce and kale // *Environmental and Experimental Botany*. – 2019. – T. 162. – C. 383-391. doi: 10.1016/j.envexpbot.2019.03.016.
160. Merzlyak M. N., Solovchenko A. E. Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence // *Plant Science*. – 2002. – T. 163. – №. 4. – C. 881-888. doi:10.1016/S0168-9452(02)00241-8.
161. Michel E. J. S., Ponnala L., van Wijk K. J. Tissue-type specific accumulation of the plastoglobular proteome, transcriptional networks, and plastoglobular functions // *Journal of Experimental Botany*. – 2021. – T. 72. – №. 13. – C. 4663-4679. doi:10.1093/jxb/erab175.
162. Mishra S., Khurana J. P. Emerging roles and new paradigms in signaling mechanisms of plant cryptochromes // *Critical Reviews in Plant Sciences*. – 2017. – T. 36. – №. 2. – C. 89-115. doi:10.1080/07352689.2017.1348725.
163. Morales A., Kaiser E. Photosynthetic acclimation to fluctuating irradiance in plants // *Frontiers in Plant Science*. – 2020. – T. 11. – C. 268. doi:10.3389/fpls.2020.00268.
164. Müller G. L., Drincovich M. F., Andreo C. S., Lara M. V. Role of photosynthesis and analysis of key enzymes involved in primary metabolism throughout the lifespan of the tobacco flower // *Journal of Experimental Botany*. – 2010. – T. 61. – №. 13. – C. 3675-3688. doi:10.1093/jxb/erq187.
165. Murphy D. J. *Plant Storage Lipids* // eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. – 2016. – C. 1–7. doi:10.1002/9780470015902.a0001918.pub3.
166. Murphy D. J., Cummins I. Biosynthesis of seed storage products during embryogenesis in rapeseed, *Brassica napus* // *Journal of Plant Physiology*. – 1989. – T. 135. – №. 1. – C. 63-69. doi:10.1016/S0176-1617(89)80225-1.
167. Nagarajan R., Gill K. S. Evolution of Rubisco activase gene in plants // *Plant Molecular Biology*. – 2018. – T. 96. – №. 1. – C. 69-87. doi:10.1007/s11103-017-0680-y.

168. Navakoudis E., Vrentzou K., Kotzabasis K. A polyamine-and LHCII protease activity-based mechanism regulates the plasticity and adaptation status of the photosynthetic apparatus // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2007. – T. 1767. – №. 4. – C. 261-271. doi:10.1016/j.bbabo.2007.02.008.
169. Nevo R., Charuvi D., Tsabari O., Reich Z. Composition, architecture and dynamics of the photosynthetic apparatus in higher plants // *The Plant Journal*. – 2012. – T. 70. – №. 1. – C. 157-176. doi:10.1111/j.1365-313X.2011.04876.x.
170. Niinemets Ü., Anten N. P. R. Packing the photosynthetic machinery: from leaf to canopy // *Photosynthesis in silico: Understanding Complexity from Molecules to Ecosystems*. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2009. – C. 363-399. doi:10.1007/978-1-4020-9237-4_16.
171. Nisemlat S., Nisemlat S., Azem A., Weiss C. The complexity of chloroplast chaperonins // *Trends in Plant Science*. – 2013. – T. 18. – №. 12. – C. 688-694. doi:10.1016/j.tplants.2013.08.001.
172. Ohmiya A., Hirashima M., Yagi M., Tanase K., Yamamizo C. Identification of genes associated with chlorophyll accumulation in flower petals // *PLoS One*. – 2014. – T. 9. – №. 12. – C. e113738. doi:10.1371/journal.pone.0113738.
173. Ouzounis T., Fretté X., Rosenqvist E., Ottosen C. O. Spectral effects of supplementary lighting on the secondary metabolites in roses, chrysanthemums, and campanulas // *Journal of Plant Physiology*. – 2014. – T. 171. – №. 16. – C. 1491-1499. doi:10.1016/j.jplph.2014.06.012.
174. Ouzounis T., Heuvelink E., Ji Y., Schouten H. J., Visser R. G. F., Marcelis L. F. M. Blue and red LED lighting effects on plant biomass, stomatal conductance, and metabolite content in nine tomato genotypes // *VIII International Symposium on Light in Horticulture*. – 2016. T.– 1134. C. 251-258. doi:10.17660/ActaHortic.2016.1134.34.
175. Paik I., Huq E. Plant photoreceptors: Multi-functional sensory proteins and their signaling networks // *Seminars in Cell & Developmental Biology*. – Academic Press, 2019. – T. 92. – C. 114-121. doi:10.1016/j.semcd.2019.03.007.
176. Pál M., Hamow K. Á., Rahman A., Majláth I., Tajti J., Gondor O. K., Ahres M., Gholizadeh F., Szalai G., Janda T. Light spectral composition modifies polyamine

- metabolism in young wheat plants // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – T. 23. – №. 15. – C. 8394. doi:10.3390/ijms23158394.
177. Palanisamy K., Vivekanandan M. Photosynthetic functions and induction of etiolation in chloroembryos of *Dolichos lablab* L. // Journal of Plant Physiology. – 1986. – T. 123. – №. 4. – C. 395-399. doi:10.1016/S0176-1617(86)80100-6.
178. Pandey D. M., Kim J. W., Lee W. S., Yeo U. D. Changes in contents of photosynthetic pigments and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity during the development of globular somatic embryo into the plantlet of *Siberian ginseng* // Photosynthetica. – 2006. – T. 44. – №. 2. – C. 221-226. doi:10.1007/s11099-006-0010-0
179. Paradiso R., Proietti S. Light-quality manipulation to control plant growth and photomorphogenesis in greenhouse horticulture: The state of the art and the opportunities of modern LED systems // Journal of Plant Growth Regulation. – 2022. – T. 41. – №. 2. – C. 742-780. doi:10.1007/s00344-021-10337-y.
180. Pinfield N. J., Stobart A. K., Crawford R. M., Beckett A. Carbon assimilation by sycamore cotyledons during early seedling development // Journal of Experimental Botany. – 1973. – T. 24. – №. 6. – C. 1203-1205. doi:10.1093/jxb/24.6.1203.
181. Portis Jr A. R., Li C., Wang D., Salvucci M. E. Regulation of Rubisco activase and its interaction with Rubisco // Journal of Experimental Botany. – 2008. – T. 59. – №. 7. – C. 1597-1604. doi:10.1093/jxb/erm240.
182. Prywes N., Phillips N. R., Tuck O. T., Valentin-Alvarado L. E., Savage D. F. Rubisco function, evolution, and engineering // Annual Review of Biochemistry. – 2023. – T. 92. – №. 1. – C. 385-410. doi:10.1146/annurev-biochem-040320-101244.
183. Ptushenko O. S., Ptushenko V. V., Solovchenko A. E. Spectrum of light as a determinant of plant functioning: A historical perspective // Life. – 2020. – T. 10. – №. 3. – C. 25. doi:10.3390/life10030025.
184. Puthur J. T., Saradhi P. P. Developing embryos of *Sesbania sesban* have unique potential to photosynthesize under high osmotic environment // Journal of Plant Physiology. – 2004. – T. 161. – №. 10. – C. 1107-1118. doi:10.1016/j.jplph.2004.03.002.

185. Puthur J. T., Shackira A. M., Saradhi P. P., Bartels D. Chloroembryos: a unique photosynthesis system // *Journal of Plant Physiology*. – 2013. – T. 170. – №. 13. – C. 1131-1138. doi:10.1016/j.jplph.2013.04.011.
186. Qu M., Essemine J., Xu J., Ablat G., Perveen S., Wang H., Chen K., Zhao Y., Chen G., Chu C., Zhu X. Alterations in stomatal response to fluctuating light increase biomass and yield of rice under drought conditions // *The Plant Journal*. – 2020. – T. 104. – №. 5. – C. 1334-1347. doi:10.1111/tpj.15004.
187. Raines C. A. Improving plant productivity by re-tuning the regeneration of RuBP in the Calvin–Benson–Bassham cycle // *New Phytologist*. – 2022. – T. 236. – №. 2. – C. 350-356. doi:10.1111/nph.18394.
188. Rivera-Amado C., Molero G., Trujillo-Negrellos E., Reynolds M., Foulkes J. Estimating organ contribution to grain filling and potential for source upregulation in wheat cultivars with a contrasting source–sink balance // *Agronomy*. – 2020. – T. 10. – №. 10. – C. 1527. doi:10.3390/agronomy10101527.
189. Rockwell N. C., Su Y. S., Lagarias J. C. Phytochrome structure and signaling mechanisms // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2006. – T. 57. – №. 1. – C. 837-858. doi:10.1146/annurev.arplant.56.032604.144208.
190. Rolletschek H., Radchuk R., Klukas C., Schreiber F., Wobus U., Borisjuk L. Evidence of a key role for photosynthetic oxygen release in oil storage in developing soybean seeds // *New Phytologist*. – 2005. – T. 167. – №. 3. – C. 777-786. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01473.x.
191. Rolletschek H., Weber H., Borisjuk L. Energy status and its control on embryogenesis of legumes. Embryo photosynthesis contributes to oxygen supply and is coupled to biosynthetic fluxes // *Plant Physiology*. – 2003. – T. 132. – №. 3. – C. 1196-1206. doi:10.1104/pp.102.017376.
192. Ruuska S. A., Girke T., Benning C., Ohlrogge J. B. Contrapuntal networks of gene expression during *Arabidopsis* seed filling // *The Plant Cell*. – 2002. – T. 14. – №. 6. – C. 1191-1206. doi:10.1105/tpc.000877.

193. Ruuska S. A., Schwender J., Ohlrogge J. B. The capacity of green oilseeds to utilize photosynthesis to drive biosynthetic processes // *Plant Physiology*. – 2004. – T. 136. – №. 1. – C. 2700-2709. doi:10.1104/pp.104.047977.
194. Saito G. Y., Chang Y. C., Walling L. L., Thomson W. W. A correlation in plastid development and cytoplasmic ultrastructure with nuclear gene expression during seed ripening in soybean // *New Phytologist*. – 1989. – T. 113. – №. 4. – C. 459-469. doi:10.1111/j.1469-8137.1989.tb00357.x.
195. Sandmann G. Diversity and origin of carotenoid biosynthesis: its history of coevolution towards plant photosynthesis // *New Phytologist*. – 2021. – T. 232. – №. 2. – C. 479-493. doi:10.1111/nph.17655.
196. Saveyn A. N., Steppe K., Ubierna N., Dawson T. E. Woody tissue photosynthesis and its contribution to trunk growth and bud development in young plants // *Plant, Cell & Environment*. – 2010. – T. 33. – №. 11. – C. 1949-1958. doi:10.1111/j.1365-3040.2010.02197.x.
197. Schenkels L., Saeys W., Lauwers A., De Proft M. P. Green light induces shade avoidance to alter plant morphology and increases biomass production in *Ocimum basilicum* L. // *Scientia Horticulturae*. – 2020. – T. 261. – C. 109002. doi:10.1016/j.scienta.2019.109002.
198. Schöttler M. A., Albus C. A., Bock R. Photosystem I: its biogenesis and function in higher plants // *Journal of Plant Physiology*. – 2011. – T. 168. – №. 12. – C. 1452-1461. doi:10.1016/j.jplph.2010.12.009.
199. Schwender J., Goffman F., Ohlrogge J. B., Shachar-Hill Y. Rubisco without the Calvin cycle improves the carbon efficiency of developing green seeds // *Nature*. – 2004. – T. 432. – №. 7018. – C. 779-782. doi:10.1038/nature03145.
200. Schwender J., Shachar-Hill Y., Ohlrogge J. B. Mitochondrial Metabolism in Developing Embryos of *Brassica napus* // *Journal of Biological Chemistry*. – 2006. – T. 281. – №. 45. – C. 34040-34047. doi:10.1074/jbc.M606266200.
201. Sela A., Piskurewicz U., Megies C., Mène-Saffrané L., Finazzi G., Lopez-Molina L. Embryonic photosynthesis affects post-germination plant growth // *Plant Physiology*. – 2020. – T. 182. – №. 4. – C. 2166-2181. doi:10.1104/pp.20.00043.

202. Sellaro R., Crepy M., Trupkin S. A., Karayekov E., Buchovsky A. S., Rossi C., Casal J. J. Cryptochrome as a sensor of the blue/green ratio of natural radiation in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. – 2010. – T. 154. – №. 1. – C. 401-409. doi:10.1104/pp.110.160820.
203. Shackira A. M., Sarath N. G., Aswathi K. P. R., Pardha-Saradhi P., Puthur J. T. Green seed photosynthesis: What is it? What do we know about it? Where to go? // *Plant Physiology Reports*. – 2022. – T. 27. – №. 4. – C. 573-579. doi:10.1007/s40502-022-00695-4.
204. Shen Y., Hong S., Li Y. Pea protein composition, functionality, modification, and food applications: A review // *Advances in Food and Nutrition Research*. – 2022. – T. 101. – C. 71-127. doi:10.1016/bs.afnr.2022.02.002.
205. Shevela D., Kern J. F., Govindjee G., Messinger J. Solar energy conversion by photosystem II: principles and structures // *Photosynthesis Research*. – 2023. – T. 156. – №. 3. – C. 279-307. doi:10.1007/s11120-022-00991-y.
206. Shewmaker C. K., Sheehy J. A., Daley M., Colburn S., Ke D. Y. Seed-specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects // *The Plant Journal*. – 1999. – T. 20. – №. 4. – C. 401-412. doi: 10.1046/j.1365-3113x.1999.00611.x.
207. Shinomura T., Nagatani A., Hanzawa H., Kubota M., Watanabe M., Furuya M. Action spectra for phytochrome A-and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana* // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1996. – T. 93. – №. 15. – C. 8129-8133. doi:10.1073/pnas.93.15.8129.
208. Shu S., Guo S. R., Yuan L. Y. A review: polyamines and photosynthesis // *Advances in Photosynthesis—Fundamental Aspects*. – 2012. – T. 109. – C. 439. doi:10.5772/26875.
209. Sierra J., Escobar-Tovar L., Leon P. Plastids: diving into their diversity, their functions, and their role in plant development // *Journal of Experimental Botany*. – 2023. – T. 74. – №. 8. – C. 2508-2526. doi:10.1093/jxb/erad044.
210. Simbo D. J., Van den Bilcke N., Samson R. Contribution of cortical photosynthesis to bud development in African baobab (*Adansonia digitata* L.) and Castor

- bean (*Ricinus communis* L.) seedlings // Environmental and Experimental Botany. – 2013. – T. 95. – C. 1-5. doi:10.1016/j.envexpbot.2013.07.002.
211. Simcox P. D., Garland W., DeLuca V., Canvin D. T., Dennis D. T. Respiratory pathways and fat synthesis in the developing castor oil seed // Canadian Journal of Botany. – 1979. – T. 57. – №. 9. – C. 1008-1014. doi:10.1139/b79-125.
212. Simkin A. J., Faralli M., Ramamoorthy S., Lawson T. Photosynthesis in non-foliar tissues: implications for yield // The Plant Journal. – 2020. – T. 101. – №. 4. – C. 1001-1015. doi:10.1111/tpj.14633.
213. Sinetova M. A., Los D. A. New insights in cyanobacterial cold stress responses: Genes, sensors, and molecular triggers // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. – 2016. – T. 1860. – №. 11. – C. 2391-2403. doi:10.1016/j.bbagen.2016.07.006.
214. Slattery R. A., Walker B. J., Weber A. P. M., Ort D. R. The impacts of fluctuating light on crop performance // Plant Physiology. – 2018. – T. 176. – №. 2. – C. 990-1003. doi:10.1104/pp.17.01234.
215. Sma-Air S., Ritchie R. J. Photosynthesis in a *Vanda* sp orchid with photosynthetic roots // Journal of Plant Physiology. – 2020. – T. 251. – C. 153187. doi:10.1016/j.jplph.2020.153187.
216. Smith H. L., McAusland L., Murchie E. H. Don't ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes // Journal of Experimental Botany. – 2017. – T. 68. – №. 9. – C. 2099-2110. doi:10.1093/jxb/erx098.
217. Smolikova G. N., Medvedev S. S. Photosynthesis in the seeds of chloroembryophytes // Russian Journal of Plant Physiology. – 2016. – T. 63. – №. 1. – C. 1-12. doi:10.1134/S1021443715060163.
218. Smolikova G., Dolgikh E., Vikhnina M., Frolov A., Medvedev S. Genetic and hormonal regulation of chlorophyll degradation during maturation of seeds with green embryos // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – T. 18. – №. 9. – C. 1993. doi:10.3390/ijms18091993.
219. Smolikova G., Kreslavski V., Shiroglazova O., Bilova T., Sharova E., Frolov A., Medvedev S. Photochemical activity changes accompanying the embryogenesis of pea

- (*Pisum sativum*) with yellow and green cotyledons // Functional Plant Biology. – 2018. – T. 45. – №. 2. – C. 228-235. doi:10.1071/FP16379.
220. Smolikova G., Shiroglazova O., Vinogradova G., Leppyanen I., Dinastiya E., Yakovleva O., Dolgikh E., Titova G., Frolov A., Medvedev S. Comparative analysis of the plastid conversion, photochemical activity and chlorophyll degradation in developing embryos of green-seeded and yellow-seeded pea (*Pisum sativum*) cultivars // Functional Plant Biology. – 2020. – T. 47. – №. 5. – C. 409-424. doi:10.1071/FP19270.
221. Smolikova G., Strygina K., Krylova E., Leonova T., Frolov A., Khlestkina E., Medvedev S. Transition from seeds to seedlings: Hormonal and epigenetic aspects // Plants. – 2021. – T. 10. – №. 9. – C. 1884. doi:10.3390/plants10091884.
222. Snowden M. C., Cope K. R., Bugbee B. Sensitivity of seven diverse species to blue and green light: Interactions with photon flux // PloS One. – 2016. – T. 11. – №. 10. – C. e0163121. doi:10.1371/journal.pone.0163121.
223. Solymosi K., Schoefs B. Etioplast and etio-chloroplast formation under natural conditions: the dark side of chlorophyll biosynthesis in angiosperms // Photosynthesis Research. – 2010. – T. 105. – №. 2. – C. 143-166. doi:10.1007/s11120-010-9568-2.
224. Spencer M. W. B., Casson S. A., Lindsey K. Transcriptional profiling of the *Arabidopsis* embryo // Plant Physiology. – 2007. – T. 143. – №. 2. – C. 924-940. doi:10.1104/pp.106.087668.
225. Sreenivasulu N., Wobus U. Seed-development programs: a systems biology-based comparison between dicots and monocots // Annual Review of Plant Biology. – 2013. – T. 64. – C. 189-217. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120215.
226. Stamford J. D., Stevens J., Mullineaux P. M., Lawson T. LED lighting: A grower's guide to light spectra // HortScience. – 2023. – T. 58. – №. 2. – C. 180-196. doi:10.21273/HORTSCI16823-22.
227. Stepanova N., Tarakhovskaya E., Soboleva A., Orlova A., Basnet A., Smolenskaya A., Frolova N., Bilova T., Kamionskaya A., Frolov A., Medvedev S., Smolikova G. Green light drives embryonic photosynthesis and protein accumulation in cotyledons of developing pea (*Pisum sativum* L.) seeds // Agronomy. – 2024. – T. 14. – №. 10. – C. 2367. doi:10.3390/agronomy14102367.

228. Stirbet A., Lazár D., Guo Y., Govindjee G. Photosynthesis: basics, history and modelling // *Annals of Botany*. – 2020. – T. 126. – №. 4. – C. 511-537. doi: 10.1093/aob/mcz171.
229. Strasser R. J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples // *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation* / ed. by M. Yunus, U. Pathre, P. Mohanty. – London: Taylor & Francis, 2000. – T. 25. – C. 445–483.
230. Strasser R. J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient // *Chlorophyll *a* Fluorescence: a Signature of Photosynthesis*. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2004. – C. 321-362. doi:10.1007/978-1-4020-3218-9_12.
231. Strzałka K., Kostecka-Gugała A., Latowski D. Carotenoids and environmental stress in plants: significance of carotenoid-mediated modulation of membrane physical properties // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2003. – T. 50. – №. 2. – C. 168-173. doi: 10.1023/A:1022960828050
232. Sun T., Rao S., Zhou X., Li L. Plant carotenoids: recent advances and future perspectives // *Molecular Horticulture*. – 2022. – T. 2. – №. 1. – C. 3. doi:10.1186/s43897-022-00023-2.
233. Takács Z., Poór P., Tari I. Comparison of polyamine metabolism in tomato plants exposed to different concentrations of salicylic acid under light or dark conditions // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2016. – T. 108. – C. 266-278. doi:10.1016/j.plaphy.2016.07.020.
234. Tambussi E. A., Nogués S., Araus J. L. Ear of durum wheat under water stress: water relations and photosynthetic metabolism // *Planta*. – 2005. – T. 221. – №. 3. – C. 446-458. doi:10.1007/s00425-004-1455-7.
235. Teixeira R. T. Distinct responses to light in plants // *Plants*. – 2020. – T. 9. – №. 7. – C. 894. doi:10.3390/plants9070894.
236. Tejos R. I., Mercado A. V., Meisel L. A. Analysis of chlorophyll fluorescence reveals stage specific patterns of chloroplast-containing cells during *Arabidopsis*

- embryogenesis // *Biological Research*. – 2010. – T. 43. – №. 1. – C. 99-111. doi:10.4067/S0716-97602010000100012.
237. Terashima I., Fujita T., Inoue T., Chow W. S., Oguchi R. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green // *Plant and Cell Physiology*. – 2009. – T. 50. – №. 4. – C. 684-697. doi:10.1093/pcp/pcp034.
238. Tian Y., Sacharz J., Ware M. A., Zhang H., Ruban A. V. Effects of periodic photoinhibitory light exposure on physiology and productivity of *Arabidopsis* plants grown under low light // *Journal of Experimental Botany*. – 2017. – T. 68. – №. 15. – C. 4249-4262. doi:10.1093/jxb/erx213.
239. Tilbrook K., Arongaus A. B., Binkert M., Heijde M., Yin R., Ulm R. The UVR8 UV-B photoreceptor: perception, signaling and response // *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*. – 2013. – T. 11. – C. e0164. doi:10.1199/tab.0164.
240. Toldi D., Gyugos M., Darkó É., Szalai G., Gulyás Z., Gierczik K., Székely A., Boldizsár Á., Galiba G., Müller M., Simon-Sarkadi L., Kocsy G. Light intensity and spectrum affect metabolism of glutathione and amino acids at transcriptional level // *PLoS One*. – 2019. – T. 14. – №. 12. – C. e0227271. doi:10.1371/journal.pone.0227271.
241. Trojak M., Skowron E., Sobala T., Kocurek M., Pałyga J. Effects of partial replacement of red by green light in the growth spectrum on photomorphogenesis and photosynthesis in tomato plants // *Photosynthesis Research*. – 2022. – T. 151. – №. 3. – C. 295-312. doi:10.1007/s11120-021-00879-3.
242. Trösch R., Mühlhaus T., Schroda M., Willmund F. ATP-dependent molecular chaperones in plastids—More complex than expected // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2015. – T. 1847. – №. 9. – C. 872-888. doi:10.1016/j.bbabi.2015.01.002.
243. Trouwborst G., Hogewoning S. W., van Kooten O., Harbinson J., van Ieperen W. Plasticity of photosynthesis after the «red light syndrome» in cucumber // *Environmental and Experimental Botany*. – 2016. – T. 121. – C. 75-82. doi:10.1016/j.envexpbot.2015.05.002.

244. Trouwborst G., Oosterkamp J., Hogewoning S. W., Harbinson J., van Ieperen W. The responses of light interception, photosynthesis and fruit yield of cucumber to LED-lighting within the canopy // *Physiologia Plantarum*. – 2010. – T. 138. – №. 3. – C. 289-300. doi:10.1111/j.1399-3054.2009.01333.x.
245. Tschiersch H., Borisjuk L., Rutten T., Rolletschek H. Gradients of seed photosynthesis and its role for oxygen balancing // *Biosystems*. – 2011. – T. 103. – №. 2. – C. 302-308. doi:10.1016/j.biosystems.2010.08.007.
246. Valverdi N. A., Guzmán-Delgado P., Goldsmith G. R., Ávila-Lovera E. Does green stem photosynthesis affect plant drought tolerance and recovery in avocado? // *AoB Plants*. – 2025. – T. 17. – №. 5. – C. plaf044. doi:10.1093/aobpla/plaf044.
247. Van Gelderen K. Photosynthesis in the Womb: Does Embryonic Photosynthesis Give Seedlings a Head Start? // *Plant Physiology*. – 2020. T. 182, C. 1817–1818. doi:10.1104/pp.20.00264.
248. Van Wijk K. J., Kessler F. Plastoglobuli: plastid microcompartments with integrated functions in metabolism, plastid developmental transitions, and environmental adaptation // *Annual Review of Plant Biology*. – 2017. – T. 68. – C. 253-289. doi:10.1146/annurev-arplant-043015-111737.
249. Vemmos S. N., Petri E., Stournaras V. Seasonal changes in photosynthetic activity and carbohydrate content in leaves and fruit of three fig cultivars (*Ficus carica* L.) // *Scientia Horticulturae*. – 2013. – T. 160. – C. 198-207. doi:10.1016/j.scienta.2013.05.036.
250. Vitlin Gruber A., Feiz L. Rubisco assembly in the chloroplast // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2018. – T. 5. – C. 24. doi:10.3389/fmolb.2018.00024.
251. Walter J., Kromdijk J. Here comes the sun: How optimization of photosynthetic light reactions can boost crop yields // *Journal of Integrative Plant Biology*. – 2022. – T. 64. – №. 2. – C. 564-591. doi:10.1111/jipb.13206.
252. Wang H. Phytochrome signaling: time to tighten up the loose ends // *Molecular Plant*. – 2015. – T. 8. – №. 4. – C. 540-551. doi:10.1016/j.molp.2014.11.021.
253. Wang Y., Folta K. M. Contributions of green light to plant growth and development // *American Journal of Botany*. – 2013. – T. 100. – №. 1. – C. 70-78. doi:10.3732/ajb.1200354.

254. Wang Y., Liu S., Tian X., Fu Y., Jiang X., Li Y., Wang G. Influence of light intensity on chloroplast development and pigment accumulation in the wild-type and etiolated mutant plants of *Anthurium andraeanum* «Sonate» // Plant Signaling & Behavior. – 2018. – T. 13. – №. 8. – C. e1482174. doi:10.1080/15592324.2018.1482174.
255. Wang Y., Maruhnich S. A., Mageroy M. H., Justice J. R., Folta K. M. Phototropin 1 and cryptochrome action in response to green light in combination with other wavelengths // Planta. – 2013. – T. 237. – №. 1. – C. 225-237. doi:10.1007/s00425-012-1767-y.
256. Ward K., Scarth R., Daun J. K., Thorsteinson C. T. Characterization of chlorophyll pigments in ripening canola seed (*Brassica napus*) // Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1994. – T. 71. – №. 12. – C. 1327-1331.
257. Weber H., Borisjuk L., Wobus U. Molecular physiology of legume seed development // Annu. Rev. Plant Biol. – 2005. – T. 56. – №. 1. – C. 253-279. doi:10.1146/annurev.arplant.56.032604.144201.
258. Winter G., Todd C. D., Trovato M., Forlani G., Funck D. Physiological implications of arginine metabolism in plants // Frontiers in Plant Science. – 2015. – T. 6. – C. 534. doi:10.3389/fpls.2015.00534.
259. Wise R. R. The diversity of plastid form and function // The Structure and Function of Plastids. – Springer, Dordrecht, 2007. – C. 3-26. doi:10.1007/978-1-4020-4061-0_1.
260. Wittmann C., Pfan H. Temperature dependency of bark photosynthesis in beech (*Fagus sylvatica* L.) and birch (*Betula pendula* Roth.) trees // Journal of Experimental Botany. – 2007. – T. 58. – №. 15-16. – C. 4293-4306. doi:10.1093/jxb/erm313.
261. Wu X. L., Liu Z. H., Hu Z. H., Huang R. Z. *BnWRI1* coordinates fatty acid biosynthesis and photosynthesis pathways during oil accumulation in rapeseed // Journal of Integrative Plant Biology. – 2014. – T. 56. – №. 6. – C. 582-593. doi:10.1111/jipb.12158.
262. Xiao Y., Tholen D., Zhu X. G. The influence of leaf anatomy on the internal light environment and photosynthetic electron transport rate: exploration with a new leaf ray tracing model // Journal of Experimental Botany. – 2016. – T. 67. – №. 21. – C. 6021-6035. doi:10.1093/jxb/erw359.

263. XiaoYing L., ShiRong G., ZhiGang X., XueLei J., Tezuka T. Regulation of chloroplast ultrastructure, cross-section anatomy of leaves, and morphology of stomata of cherry tomato by different light irradiations of light-emitting diodes // *HortScience*. – 2011. – T. 46. – №. 2. – C. 217-221. doi:10.21273/hortsci.46.2.217.
264. Yakovlev M. S., Zhukova G.Y. Chlorophyll in embryos of angiosperm seeds, a review // *Botaniska Notiser*. – 1980. – T. 133. – C. 323–336.
265. Yamazaki J., Kamimura Y., Okada M., Sugimura Y. Changes in photosynthetic characteristics and photosystem stoichiometries in the lower leaves in rice seedlings // *Plant Science*. – 1999. – T. 148. – №. 2. – C. 155-163. doi:10.1016/S0168-9452(99)00132-6.
266. Yang F., Feng L., Liu Q., Wu X., Fan Y., Raza M. A., Cheng Y., Chen J., Wang X., Yong T., Liu W., Liu J., Du J., Shu K., Yang W. Effect of interactions between light intensity and red-to-far-red ratio on the photosynthesis of soybean leaves under shade condition // *Environmental and Experimental Botany*. – 2018. – T. 150. – C. 79-87. doi:10.1016/j.envexpbot.2018.03.008.
267. Yang J., Kalhan S. C., Hanson R. W. What is the metabolic role of phosphoenolpyruvate carboxykinase? // *Journal of Biological Chemistry*. – 2009. – T. 284. – №. 40. – C. 27025-27029. doi:10.1074/jbc.R109.040543.
268. Yang T., Wu X., Wang W., Wu Y. Regulation of seed storage protein synthesis in monocot and dicot plants: A comparative review // *Molecular Plant*. – 2023. – T. 16. – №. 1. – C. 145-167. doi:10.1016/j.molp.2022.12.004.
269. Yanykin D., Sundyрева M., Khorobrykh A., Semenova G., Savchenko T. Functional characterization of the cortical photosynthetic apparatus in grapevine // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2020. – T. 1861. – №. 11. – C. 148260. doi:10.1016/j.bbabi.2020.148260.
270. Yu A., Xie Y., Pan X., Zhang H., Cao P., Su X., Chang W., Li M. Photosynthetic phosphoribulokinase structures: Enzymatic mechanisms and the redox regulation of the Calvin-Benson-Bassham cycle // *The Plant Cell*. – 2020. – T. 32. – №. 5. – C. 1556-1573. doi:10.1105/tpc.19.00642.

271. Zandomenighi M., Festa C., Carbonaro L., Galleschi L., Lenzi A., Calucci L. Front-surface absorbance spectra of wheat flour: determination of carotenoids // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2000. – T. 48. – №. 6. – C. 2216-2221. doi:10.1021/jf9909003.
272. Zhang Q., Tang W., Peng S., Li Y. Limiting factors for panicle photosynthesis at the anthesis and grain filling stages in rice (*Oryza sativa* L.) // *The Plant Journal*. – 2022. – T. 109. – №. 1. – C. 77-91. doi:10.1111/tpj.15554.
273. Zhang R. H., Li J., Guo S. R., Tezuka T. Effects of exogenous putrescine on gas-exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of NaCl-stressed cucumber seedlings // *Photosynthesis Research*. – 2009. – T. 100. – №. 3. – C. 155-162. doi:10.1007/s11120-009-9441-3.
274. Zhang T., Maruhnich S. A., Folta K. M. Green light induces shade avoidance symptoms // *Plant Physiology*. – 2011a. – T. 157. – №. 3. – C. 1528-1536. doi:10.1104/pp.111.180661.
275. Zhang Y., Zhang Y., Wang Z., Wang Z. Characteristics of canopy structure and contributions of non-leaf organs to yield in winter wheat under different irrigated conditions // *Field Crops Research*. – 2011b. – T. 123. – №. 3. – C. 187-195. doi:10.1016/j.fcr.2011.04.014.
276. Zhen S., van Iersel M. W., Bugbee B. Photosynthesis in sun and shade: the surprising importance of far-red photons // *New Phytologist*. – 2022. – T. 236. – №. 2. – C. 538-546. doi:10.1111/nph.18375.
277. Zheng L., He H., Song W. Application of light-emitting diodes and the effect of light quality on horticultural crops: A review // *HortScience*. – 2019. – T. 54. – №. 10. – C. 1656-1661. doi:10.21273/HORTSCI14109-19.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1П – Условия газовой хроматографии (ГХ) и настройки квадрупольного масс-спектрометра с ионизацией в потоке электронов для анализа первичных полярных термостабильных метаболитов, выделенных из зрелых семян гороха (*Pisum sativum*), сформировавшихся при разных условиях спектрального состава света (КС и КЗС)

Параметры	Настройки газового хроматографа
Хроматографическая аналитическая колонка	Phenomenex ZB-5MS (длина колонки – 30 м; внутренний диаметр колонки – 0.25 мм; толщина слоя неподвижной фазы – 0.25 мкм)
Газ-носитель / скорость потока газа-носителя	Гелий / 1 мл/мин
Режим работы инжектора (испарителя)	Режим без разделения потока (продолжительность инъекции 90 сек)
Температура инжектора	250°C
Температурный режим	начальная температура 40°C (1 мин) линейный градиент 15°C/мин до 70°C 1 мин 70°C линейный градиент 6°C/мин до 320°C 12 мин 320°C
Параметры	Настройки масс-спектрометра
Ионный источник	Ионизация электронным ударом
Энергия электронов	70 эВ
Режим регистрации суммарного ионного тока	Сканирование со скоростью 0.34 сек/скан
Диапазон значений m/z	50 – 700

Анализ методом ГХ-МС проводили на газовом хроматографе Shimadzu GC2010, соединенном в режиме реального времени с квадрупольным масс-селективным детектором Shimadzu GCMS QP2010, оснащенный автоматической системой ввода пробы CTC GC PAL (Shimadzu Deutschland GmbH, Дуйсбург, Германия).

Таблица 2П – Состав стандартной смеси линейных алканов, используемой для определения индексов удерживания Ковача (RIs)

Название алкана	Химическая формула	m/z	RI	tr (мин)
Undecane	C ₁₁ H ₂₄	156	1100	9.537
Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	170	1200	11.904
Tridecane	C ₁₃ H ₂₈	184	1300	14.433
Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	198	1400	16.957
Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	212	1500	19.009
Hexadecane	C ₁₆ H ₃₄	226	1600	20.901
Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240	1700	22.675
Octadecane	C ₁₈ H ₃₈	254	1800	24.404
Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268	1900	26.053
Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282	2000	27.646
Heneicosane	C ₂₁ H ₄₄	296	2100	29.169
Docosane	C ₂₂ H ₄₆	310	2200	30.657
Tricosane	C ₂₃ H ₄₈	324	2300	32.086
Tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	338	2400	33.462
Pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	352	2500	34.786
Hexacosane	C ₂₆ H ₅₄	366	2600	36.059
Heptacosane	C ₂₇ H ₅₆	380	2700	37.289
Octacosane	C ₂₈ H ₅₈	394	2800	38.472
Nonacosane	C ₂₉ H ₆₀	408	2900	39.624
Triacontane	C ₃₀ H ₆₂	422	3000	40.729
Hentriacontane	C ₃₁ H ₆₄	436	3100	41.806
Dotriacontane	C ₃₂ H ₆₆	450	3200	42.848
Tritriacontane	C ₃₃ H ₆₈	464	3300	43.859
Tetratriacontane	C ₃₄ H ₇₀	478	3400	44.841
Pentatriacontane	C ₃₅ H ₇₂	492	3500	45.792
Hexatriacontane	C ₃₆ H ₇₄	506	3600	46.81
Heptatriacontane	C ₃₇ H ₇₆	520	3700	47.96
Octatriacontane	C ₃₈ H ₇₈	534	3800	49.285
Nonatriacontane	C ₃₉ H ₈₀	548	3900	50.848
Tetracontane	C ₄₀ H ₈₂	562	4000	52.723

m/z – значение отношения массы к заряду молекулярного иона алкана; **RI** – индекс удерживания; **tr** - время удерживания

Таблица 3П – Анализ анионных первичных термолабильных метаболитов, обнаруженных методом ионопарной обращенно-фазовой ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ИП-ОФ-УВЭЖХ-МС/МС) в этанольно-водных экстрактах зародышей, выделенных из зрелых семян гороха (*Pisum sativum*), сформировавшихся при разных условиях спектрального состава света (КС и КЗС). Анализ ИП-ОФ-УВЭЖХ-МС/МС выполняли с использованием жидкостного хроматографа Waters ACQUITY UPLC H-Class (Waters GmbH, Эшборн, Германия), соединенного в режиме реального времени с масс-спектрометром AB Sciex QTRAP 6500 (AB Sciex, Дармштадт, Германия) с ионизацией веществ в электроспрее и гибридным масс-анализатором, совмещающим квадруполь и ионную ловушку.

ХРОМАТОГРАФИЯ

Параметры работы устройства автоматического ввода проб (ACQUITY Sample Manager)	
Режим ввода пробы	Режим частичного заполнения дозирующей петли
Объем вводимой пробы (дозирования)	5 мкл
Растворитель для «мягкой» промывки	0,3 ммоль/л водный раствор формиата аммония
Объем «мягкой» промывки	800 мкл
Растворитель для «сильной» промывки	Ацетонитрил
Объем «сильной» промывки	400 мкл
Заданная температура образца	4.0°C
Промывка иглы с переполнением	Автоматическая
Параметры аналитической колонки	
Хроматографическая колонка	EC 150/2 NUCLEOSHELL RP 18 (150 x 2 мм, размер частиц 2.7 мкм)
Заданная температура колонки	40.0°C
Параметры работы бинарного насоса высокого давления (ACQUITY Binary Solvent Manager (BSM))	
Элюент А	0,3 ммоль/л водного раствора формиата аммония
Элюент Б	Ацетонитрил
Продолжительность промывки уплотнений	5 мин
Расход	0.4 мл/мин
Программа элюирования	2% элюента Б изократически – 2 мин градиент до 36% элюента Б – 16 мин градиент до 95% элюента Б – 3 мин 95% элюента Б изократически – 1,5 мин градиент до 2% элюента Б – 0,1 мин 2% элюента В изократически – 2,4 мин (повторное уравнивание)

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

Общие сведения	
Тип масс-анализатора	Тройной гибридный масс-анализатор совмещающий квадруполь и линейную ионную ловушку (QqLIT, QTRAP, работающий в режиме тройного квадруполь, QqQ)
Источник ионов	TurboIonSpray®
Тип эксперимента	Мониторинг множественных реакций (multiple reaction monitoring, MRM)
Режим ионизации	Отрицательный
Время цикла (сек)	1.1
Пауза между диапазонами (мс)	5.007
Время стабилизации (сек)	0
Продолжительность	24 мин
Настройки источника ионов	
Газ-распылитель (фунт/кв. дюйм)	60
Осушающий газ (фунт/кв. дюйм)	70
Завесный газ (фунт/кв. дюйм)	40
Напряжение электроспрея (кВ)	-4.5
Температура источника ионов (°C)	450
Настройки MC/MC (тандемная масс-спектрометрия)	
Режим фрагментации	Фрагментация, активируемая соударениями (CAD)
Тип эксперимента в режиме MC/MC	Мониторинг множественных реакций (MRM)
Газ для соударений для фрагментации ионов	Азот
Давление газа для соударений	3 фунт/кв. дюйм (среднее)
Входной потенциал (EP)	-10.0 В
Запланированный MRM	Включен
Тип запланированного MRM	Базовый
Окно детектирования MRM	500 сек
Целевое время сканирования	1 сек
Длительность регистрации селективных переходов (dwell time)	Настраивается алгоритмом запланированного MRM
Разрешение Q1	Единичное
Разрешение Q3	Единичное

Таблица 4П – Термостабильные метаболиты, выявленные с помощью анализа методом ГХ-МС в метанольно-водных экстрактах зародышей, выделенных из зрелых семян гороха (*Pisum sativum*), сформировавшихся при разных условиях спектрального состава света (КС и КЗС)

№	Аннотированный метаболит ^а	Группы дериватизации ^б	tr ^в (эксп.)	RI ^г	m/z (кол.) ^д	Библиотека, коэффициент соответствия ^е
1	Lactic acid	2TMS	9.04	1079.1	117	NIST (962), ASL
2	Glycolic acid	2TMS	9.40	1094.0	177	NIST (939), ASL
3	Oxalic acid	2TMS	10.57	1143.5	190	NIST (890), ASL
4	RI 1166 unknown		11.09	1165.6	205	
5	Beta-Hydroxybutyric acid	2TMS	11.16	1168.4	117	NIST (788)
6	Leucine peak 1	1TMS	11.38	1178.0	86	NIST (703)
7	Methylphosphate	2TMS	11.54	1184.8	241	NIST (849)
8	3-Hydroxy-3-methylbutyric acid	2TMS	12.23	1212.9	131	NIST (754)
9	Valine	2TMS	12.34	1217.4	144	NIST (896), ASL
10	RI 1234 unknown		12.76	1233.7	159	
11	Urea	2TMS	13.12	1248.1	189	NIST (932)
12	Ethanolamine	3TMS	13.41	1259.5	174	NIST (902)
13	Leucine peak 2	2TMS	13.57	1266.1	158	NIST (712), ASL
14	Phosphoric acid	3TMS	13.58	1266.4	299	NIST (962), ASL
15	Glycerol	3TMS	13.63	1268.5	218	NIST (934), ASL
16	Isoleucine	2TMS	14.05	1285.0	158	NIST (870), ASL
17	Proline	2TMS	14.12	1287.8	142	NIST (794), ASL
18	Threonine peak 1	2TMS	14.14	1288.6	219	NIST (867), ASL
19	Glycine	3TMS	14.30	1294.8	174	NIST (941), ASL
20	Succinic acid	2TMS	14.57	1305.4	247	NIST (951), ASL
21	Ethylmalonic acid	2TMS	14.83	1315.7	261	NIST (853)
22	Glyceric acid	3TMS	14.91	1318.9	189	NIST (724), ASL
23	Uracil	2TMS	15.06	1325.0	241	NIST (921)
24	Fumaric acid	2TMS	15.38	1337.4	245	NIST (838), ASL
25	2,5-Hydroxypyrazine	2TMS	15.52	1343.0	241	NIST (829)
26	Serine	3TMS	15.56	1344.6	204	NIST (805), ASL
27	Nonanoic acid	1TMS	15.67	1349.1	215	NIST (700)
28	Threonine peak 2	3TMS	16.10	1365.9	218	NIST (906), ASL
29	2,4-Hydroxybutyric acid	3TMS	16.67	1388.8	103	NIST (817)
30	Beta-alanine	3TMS	16.97	1400.6	248	NIST (864), ASL
31	Aspartic acid peak 1	2TMS	16.98	1401.2	160	NIST (920), ASL
32	RI 1414 unknown		17.25	1414.1	243	
33	Homoserine	3TMS	17.44	1423.8	128	GMD (649), ASL
34	Malic acid	3TMS	18.28	1457.6	233	NIST (958), ASL
35	Erythritol	4TMS	18.53	1476.4	217	NIST (742), ASL
36	Pyroglutamic acid	2TMS	18.89	1494.2	156	NIST (947), ASL
37	Aspartic acid peak 2	3TMS	18.93	1496.0	232	GMD (835), ASL
38	Gamma-aminobutyric acid	3TMS	19.05	1502.5	174	NIST (873), ASL

39	RI 1506 sugar		19.11	1505.8	217	
40	Glutamic acid peak 1	2TMS	19.22	1511.0	174	NIST (856), ASL
41	RI 1511 phenol	3TMS	19.23	1511.4	239	NIST (750)
42	Threonic acid	4TMS	19.38	1519.6	292	NIST (730)
43	RI 1528 unknown		19.54	1528.0	219	
44	Erythronic acid	4TMS	19.72	1537.7	292	NIST (917), ASL
45	Phenylalanine peak 1	1TMS	19.75	1539	120	NIST (700)
46	2-Hydroxyglutaric acid	2TMS	19.89	1546.5	267	NIST (801)
47	Alpha-ketoglutaric acid	1MEOX 2TMS	20.11	1557.0	198	NIST (700), ASL
48	RI 1576 amine		20.44	1575.7	174	
49	Pyrogallol	3TMS	20.49	1578.2	342	NIST (830)
50	Glutamic acid peak 2	3TMS	20.89	1599.3	246	NIST (866), ASL
51	Phenylalanine peak 2	2TMS	20.97	1603.8	218	NIST (891), ASL
52	RI 1610 phenolic acid		21.07	1609.8	267	
53	Tartaric acid	4TMS	21.21	1617.2	292	NIST (842), ASL
54	Xylose	1MEOX 4TMS	21.54	1635.8	103	NIST (634), ASL
55	Arabinose	1MEOX 4TMS	21.67	1643.3	103	NIST (707), ASL
56	RI 1650 unknown		21.79	1650.2	140	
57	Ribose	1MEOX 4TMS	21.94	1658.9	103	NIST (700)
58	RI 1677 pentitol		22.27	1677.0	319	
59	Xylitol	5TMS	22.43	1686.4	217	NIST (700)
60	Arabitol	5TMS	22.69	1701.0	217	NIST (840), ASL
61	Ribitol	5TMS	22.78	1706.2	217	NIST (970), ASL
62	Glycerol-2-phosphate	4TMS	22.86	1710.5	299	NIST (700), ASL
63	Putrescine	4TMS	22.97	1717.1	174	NIST (731), ASL
64	RI 1734 unknown		23.27	1734.4	333	
65	RI 1745 sugar acid		23.45	1744.9	292	
66	Glycerol-3-phosphate	4TMS	23.47	1746.0	357	NIST (939), ASL
67	RI 1752 sugar		23.58	1752.2	217	
68	RI 1763 sugar acid		23.77	1763.4	292	
69	Phosphoethanolamine	4TMS	23.8	1765.2	299	NIST (792)
70	RI 1786 sugar acid		24.17	1786.4	333	
71	Shikimic acid	4TMS	24.37	1798.0	255	NIST (786)
72	Ornithine	4TMS	24.41	1800.3	142	GMD (700)
73	Citric acid	4TMS	24.49	1805.5	375	NIST (911), ASL
74	Lysine peak 1	3TMS	25.08	1841.1	174	NIST (738), ASL
75	Pinitol	5TMS	25.2	1848.3	260	NIST (800), ASL
76	Fructose peak 1	1MEOX 5TMS	25.36	1857.8	307	NIST (950), ASL
77	Adenine	2TMS	25.37	1858.2	264	NIST (700)
78	RI 1862 unknown		25.43	1862.5	275	
79	Fructose peak 2	1MEOX 5TMS	25.53	1868.4	307	NIST (945), ASL
80	Mannose	1MEOX 5TMS	25.61	1873.0	319	NIST (700)
81	Galactose peak 1	1MEOX 5TMS	25.67	1876.8	319	NIST (798), ASL
82	Glucose	1MEOX 5TMS	25.77	1883.3	319	NIST (727), ASL

83	Methyl-galactopyranoside	4TMS	25.83	1886.3	204	NIST (840)
84	Galactose peak 2	1MEOX 5TMS	26.03	1898.6	319	NIST (924), ASL
85	Lysine peak 2	4TMS	26.21	1909.7	174	NIST (914), ASL
86	Mannitol	6TMS	26.30	1915.5	319	NIST (926), ASL
87	Glucuronic acid	1MEOX 5TMS	26.39	1921.4	333	GMD (700), ASL
88	Sorbitol	6TMS	26.41	1922.4	319	NIST (936), ASL
89	Dulcitol	6TMS	26.49	1927.5	319	NIST (703), ASL
90	Sequoitol	5TMS	26.69	1940.3	318	NIST (724), ASL
91	RI 1950 sugar acid		26.85	1949.9	333	
92	RI 1953 sugar acid		26.90	1953.5	333	
93	RI 1963 unknown		27.06	1963.3	394	
94	Galactonic acid	6TMS	27.36	1982.3	292	NIST (887)
95	Gluconic acid	6TMS	27.43	1986.4	333	NIST (823), ASL
96	Glucaric acid	6TMS	27.59	1996.2	333	NIST (779), ASL
97	RI 2001 sugar acid		27.66	2000.7	333	
98	RI 2007 unknown		27.74	2006.3	155	
99	RI 2020 amine		27.95	2019.7	174	
100	Galactaric acid	6TMS	28.11	2030.6	333	NIST (700), ASL
101	Palmitic acid	TMS	28.24	2039.1	313	NIST (948), ASL
102	Myo-inositol	6TMS	28.86	2079.8	305	NIST (957), ASL
103	Ferulic acid	2TMS	29.02	2089.9	338	NIST (700)
104	RI 2100 unknown		29.17	2100.3	245	
105	Caffeic acid	3TMS	29.66	2132.8	396	NIST (715), ASL
106	RI 2178 hexose		30.33	2178.2	204	
107	RI 2183 hexose		30.41	2183.2	204	
108	Spermidine peak 1	4TMS	30.47	2187.3	174	NIST (851)
109	Diglycerol-phosphate	5TMS	30.54	2191.9	357	NIST (774)
110	Linoleic acid	1TMS	30.72	2204.4	337	NIST (731), ASL
111	Tryptophan	3TMS	30.73	2205	202	NIST (882), ASL
112	Oleic acid	1TMS	30.81	2210.7	339	NIST (706), ASL
113	RI 2220 carbohydrate		30.95	2220.5	363	
114	Stearic acid	1TMS	31.21	2238.5	341	NIST (871), ASL
115	Spermidine peak 2	5TMS	31.28	2243.6	144	NIST (815)
116	RI 2294 unknown		32.00	2294.1	204	
117	Fructose-6-phosphate	1MEOX 6TMS	32.09	2300.1	315	NIST (700)
118	Glucose-6-phosphate	1MEOX 6TMS	32.24	2311.2	387	NIST (750), ASL
119	RI 2370 unknown		33.05	2370.0	204	
120	Myo-inositol-1-phosphate	7TMS	33.5	2402.6	318	NIST (896)
121	RI 2428 carbohydrate		33.84	2428.5	204	
122	RI 2438 unknown		33.97	2438.2	340	
123	RI 2487 amine		34.61	2486.6	174	
124	Sucrose	8TMS	36.44	2630.7	437	NIST (888), ASL
125	RI 2687 carbohydrate		37.13	2686.8	204	
126	RI 2719 disaccharide		37.51	2718.9	361	
127	Maltose peak 1	1MEOX 8TMS	37.63	2728.8	361	NIST (921), ASL
128	Maltose peak 2	1MEOX 8TMS	37.95	2756.0	361	NIST (850), ASL

129	RI 2788 fatty acid derivative		38.33	2788.4	311	
130	RI 2816 disaccharide		38.65	2815.7	361	
131	Maltitol	9TMS	38.78	2826.7	361	GMD (700)
132	Melibiose	1MEOX 8TMS	39.13	2857.4	361	NIST (701)
133	RI 2873 carbohydrate		39.32	2873.5	204	
134	RI 2880 carbohydrate		39.39	2879.8	204	
135	RI 2906 disaccharide		39.68	2905.6	204	
136	RI 2908 disaccharide phosphate		39.72	2908.3	315	
137	RI 2938 carbohydrate		40.04	2937.9	204	
138	Galactinol	9TMS	40.46	2975.4	204	NIST (907), ASL
139	Gamma tocopherol	1TMS	40.64	2992.0	488	NIST (871)
140	RI 3121 carbohydrate		42.02	3120.9	597	
141	RI 3139 unknown		42.22	3139.5	259	
142	RI 3143 tryptophane derivative		42.26	3143.4	202	
143	RI 3251 unknown		43.36	3250.9	487	
144	Campesterol	1TMS	43.38	3253.1	382	NIST (841)
145	Sitosterol	1TMS	44.24	3338.6	357	NIST (920)
146	Raffinose	11TMS	44.62	3377.8	437	NIST (940), ASL
147	Erlose	11TMS	44.98	3414.9	361	ASL
148	RI 3460 trisaccharide		45.41	3459.8	361	
149	RI 3487 trisaccharide		45.67	3487.4	361	
150	RI 3502 trisaccharide		45.81	3501.6	361	
151	RI 3802 carbohydrate		49.31	3801.6	204	
152	RI 3810 carbohydrate		49.44	3809.9	204	
153	RI 3863 carbohydrate		50.27	3862.9	204	

^a – идентификацию метаболитов осуществляли на основании времени удержания (tR), индекса удержания (RI) и ЭИ-спектров (Electron Ionization, EI) коэлюирующих эталонных стандартов из внутренней библиотеки масс-спектров (ASL), а также на основе данных по RI и ЭИ-спектрам из библиотек NIST 08 (National Institute of Standards and Technology) и GMD (Golm Metabolome Database). Неидентифицированные метаболиты обозначены как «unknown» с указанием соответствующего индекса удержания (RI). Названия метаболитов, аннотированных только к определенному химическому классу (для которого не удалось установить точную структуру), начинаются с RI, за которым следует название аннотированного химического класса. Принадлежность к конкретным химическим классам подтверждалась наличием характерных сигналов в ЭИ-спектрах (например, сахарид-фосфат – m/z 299, 315, 387; дисахарид – m/z 361, 204, 319). Метаболиты перечислены в порядке возрастания времени удержания (tR).

^b – число триметилсилильных (TMS) и метилоксимных (MEOX) групп в структурах аннотированных аналитов.

^в – время удержания, мин.

^г – RI, индекс удержания Ковача, рассчитанный по времени удержания алканов.

^d – значение m/z соответствует наиболее характерному для соединения фрагментарному сигналу, выбранному для количественного определения по площадям пиков в хроматограммах характерных экстрагированных ионов.

^e – для аннотации метаболитов использовались библиотеки ЭИ-МС, содержащие масс-спектры электронной ионизации (ЭИ, EI) и индексы удерживания (RI): ASL — собственная библиотека индексов удерживания и спектров аутентичных стандартов, NIST 08 — National Institute of Standards and Technology, GMD — Golm Metabolome Database (<http://gmd.mpimp-golm.mpg.de/>). Число обозначает коэффициент фактора соответствия в поиске NIST для соответствующей библиотеки.

Таблица 5П – Термолабильные полярные метаболиты, выявленные с помощью целевого анализа методом ОФ-УВЭЖХ-МС в кислых этанольно-водных экстрактах зародышей, выделенных из зрелых семян гороха (*Pisum sativum*), сформировавшихся при разных условиях спектрального состава света (КС и КЗС).

№	Название метаболита ^a	tr (мин)	Q1 (m/z) ^b	Q3 (m/z) ^c
1	Asparagine	0.56	131	87
2	Allantoin	0.57	157	97.2
3	Ornithine	0.71	131.1	82.9
4	Arginine	0.72	173.1	131
5	Proline	0.8	114	86
6	Serine	0.83	104	74
7	Glutamine	0.84	145.1	108.9
8	Glucose	0.84	179	89
9	Glycine	0.85	74	74
10	Sucrose	0.85	341	89
11	Threonine	0.86	118.1	73.9
12	S-Adenosyl-L-homocysteine	0.87	383.1	133.9
13	Cytidine	0.9	242.1	108.9
14	Lysine	0.9	145.1	99
15	Methionine	0.92	148	47
16	Uridine	0.92	243.1	109.9
17	Tyrosine	0.95	180.1	118.9
18	Leucine/Isoleucine	1.01	261	130
19	Guanosine	1.37	282.1	149.9
20	2-Deoxyguanosine	1.48	266.1	150
21	Phenylalanine	1.65	164.1	103

22	Adenosine	2.33	266.1	133.9
23	Aspartic acid	2.42	132	88
24	Glutamic acid	2.42	146	102
25	5-Deoxyadenosine	2.42	250	134
26	Glucosamine-1-phosphate	2.44	258	78.9
27	D-Galactonic/Gluconic acid	2.44	195.1	129
28	Shikimic acid	2.44	173	92.9
29	Ribonic acid	2.51	165	75
30	Glycolic acid	2.53	75	47
31	3-Dehydroshikimic acid	2.55	171	127
32	Dihydroorotic acid	2.55	157	112.7
33	Uric acid	2.56	167	124
34	Tryptophan	2.58	203.1	116.2
35	Chloride	2.8	35	35
36	Lactic acid	3.1	89	42.9
37	Phosphoric acid	3.65	96.9	78.9
38	Glutathione	3.85	306.1	143
39	Nicotinamide adenine dinucleotide	4.38	662.1	540.1
40	Pyruvic acid	4.61	87	43
41	Sedoheptulose-7-phosphate	5.52	289	97
42	Cyclic guanosine monophosphate	5.54	344	150
43	Fructose-6-phosphate/Glucose-6-phosphate	5.56	259	96.9
44	Glyceraldehyde-3-phosphate	5.62	169	97
45	Argininosuccinic acid	5.63	289	97
46	Glycerol-3-phosphate	5.7	171	78.8
47	Glucose-1-phosphate	5.88	259	240.8
48	2-C-methylerythritol-4-phosphate	5.96	215	78.9
49	Cytidine monophosphate	6.26	322	79
50	Nicotinic acid	6.42	122	77.9
51	Pantothenic acid	6.45	307	79
52	2-Deoxyribose-5-phosphate	6.46	229	96.8

53	Adenosine-2,3-cyclic monophosphate/Adenosine-3,5-cyclic monophosphate	6.73	328	134
54	Uridine monophosphate	7.10	323	79
55	Dihydroxyacetone phosphate	7.46	169	97
56	Deoxythymidine-5-monophosphate	8.03	321	79
57	2-Deoxyguanosine-5-monophosphate	8.28	346.1	78.8
58	Inosinic acid	8.28	347	134.8
59	Adenosine monophosphate	8.29	346.1	78.8
60	Guanosine-5-monophosphate	8.38	362.1	78.9
61	Glutathione disulfide	8.52	611.1	306.1
62	1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate	8.63	213	97
63	2-Deoxyadenosine-5-monophosphate	8.72	330.1	195
64	3-Hydroxypyruvic acid	9.33	103	59
65	Ureidosuccinic acid	9.4	175	131.8
66	Succinic acid	9.43	117	73
67	Uridine-5-diphosphate-glucose	9.43	565	323
68	Uridine-diphosphate-N-acetylglucosamine	9.54	606	385
69	Fumaric acid	9.65	115	71
70	Malic acid	9.65	133	115
71	Sulphate	9.72	97	97
72	Adenosine diphosphate glucose	10.01	588.1	345.9
73	Adenosine diphosphoribose	10.2	558.1	346
74	Alpha-ketoglutaric acid	10.29	145	101
75	Pentanoates	10.3	101.1	101.1
76	2-C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclic diphosphate	10.45	277	79
77	1,4-Dihydronicotinamide adenine dinucleotide	10.72	664.1	78.9
78	(R)-5-phosphomevalonic acid	11.44	227	97
79	Uridine-5-diphosphate	12.9	483	158.8
80	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	13	743.1	620
81	Aconitic acid	13.02	173	128.7

82	Phosphoenolpyruvic acid	13.4	167	78.8
83	Citric acid	13.75	191	87
84	Isocitric acid	14.1	191	73
85	4-Diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol 2-phosphate	14.7	600	79
86	Fructose-1,6-diphosphate	15.3	339	96.9
87	Adenylosuccinic acid	15.87	462.1	133.9
88	ADP-ribose-2-phosphate	16.25	638	426

Целенаправленная регистрация данных ОФ-УВЭЖХ-МС осуществлялась в режиме мониторинга множественных реакций (MRM).

^a – метаболиты представлены в порядке возрастания времени удерживания (tR);

^б – Q1 – m/z значение молекулярного иона (ион-предшественник);

^в – Q3 – m/z значение характерного ион-фрагмента (ион-продукт);

^{б,в} – специфические для каждого аналита комбинации m/z значений для Q1 и Q3 (т.е. селективные MRM-переходы: конкретная пара масс: ион-предшественник → ион-продукт).

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю, кандидату биологических наук, доценту кафедры физиологии и биохимии растений Санкт-Петербургского государственного университета Галине Николаевне Смоликовой за исключительную помощь и поддержку на протяжении всей работы над диссертацией, чуткое руководство, вдохновение, а также мудрое наставничество.

Автор искренне благодарит доктора биологических наук, заведующего кафедрой физиологии и биохимии растений Санкт-Петербургского государственного университета Сергея Семёновича Медведева за научные консультации и участие в подготовке публикаций по результатам диссертационного исследования.

Автор выражает особую благодарность Анастасии Михайловне Камионской, кандидату биологических наук, руководителю группы биоинженерии растений ФИЦ Биотехнологии РАН, на базе которой выполнено исследование, а также всему коллективу молодёжной лаборатории адаптивной фитобиотехнологии ФИЦ Биотехнологии РАН за поддержку, отзывчивость и дружескую атмосферу.

Автор искренне благодарен своей семье и, в первую очередь, мужу Всеволоду Романовичу Горохову за терпение, безграничную поддержку и веру в успех.