



Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Фотохимическая активность формирующихся семядолей гороха (*Pisum sativum* L.) зависит от светопропускания покровных тканей и спектрального состава света

Г.Н. Смоликова^{1, 2} , Н.В. Степанова^{1, 2}, А.М. Камионская², С.С. Медведев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Институт биоинженерии им. К.Г. Скрыбина, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия


 g.smolikova@spbu.ru

Аннотация. У многих сельскохозяйственных растений для формирования семян необходимы не только фотосинтез листьев, но также фотохимические реакции, происходящие в семенах. Цель нашей работы заключалась в сравнительном анализе светопропускания и фотохимической активности листьев, перикарпия, кожуры и семядолей *Pisum sativum* L. на ранней, средней и поздней стадиях созревания семян. Спектральный состав света измеряли при помощи спектрорадиометра в области 390–760 нм. Светопропускание растительных тканей оценивали, разместив растительную ткань между источником освещения и датчиком спектрорадиометра. Фотохимическую активность растительных тканей определяли методом PAM-флуориметрии, позволяющим оценить эффективность преобразования световой энергии в химическую путем анализа кинетики возбуждения и гашения флуоресценции хлорофиллов. Фотохимически активный зеленый лист гороха пропускал в среднем 15 % солнечной радиации в диапазоне 390–760 нм; при этом синий свет задерживался полностью, а количество проходящего красного света составляло не более 5 %. Фотохимически активная радиация, проходящая сквозь перикарпий и кожуру и достигающая семядолей на ранней и средней стадиях созревания семян, характеризовалась высокой долей зеленого и дальнего красного света, при этом синий свет отсутствовал, а количество красного света составляло около 2 %. Однако, несмотря на низкую энергетическую освещенность и спектральные диапазоны, не характерные для фотосинтеза листа, семядоли были фотохимически активными. На ранней и средней стадиях созревания максимальный квантовый выход фотосистемы II (F_v/F_m) в среднем составлял 0.5 на периферии семядолей и 0.3 в центре семядолей. Поскольку интенсивность эмбриональных фотохимических реакций в значительной степени влияет на эффективность накопления запасных питательных веществ, этот параметр является перспективным маркером для селекции семян гороха с улучшенными пищевыми качествами.

Ключевые слова: *Pisum sativum* L.; созревание семян; светопропускание тканей; интенсивность освещения; фотохимически активная радиация; фотохимическая активность; PAM-флуориметрия.


Для цитирования: Смоликова Г.Н., Степанова Н.В., Камионская А.М., Медведев С.С. Фотохимическая активность формирующихся семядолей гороха (*Pisum sativum* L.) зависит от светопропускания покровных тканей и спектрального состава света. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023; 27(8):980-987. DOI 10.18699/VJGB-23-113

Photochemical activity in developing pea (*Pisum sativum* L.) cotyledons depends on the light transmittance of covering tissues and the spectral composition of light

G.N. Smolikova^{1, 2} , N.V. Stepanova^{1, 2}, A.M. Kamionskaya², S.S. Medvedev¹

¹ Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

 g.smolikova@spbu.ru

Abstract. Many crops require not only leaf photosynthesis for their seed development but also the photochemical reactions that occur in the seeds. The purpose of this work was a comparative analysis of light transmittance and photochemical activity in the leaves of *Pisum sativum* L. and its pericarp, seed coat, and cotyledons at the early, middle, and late maturation stages. The spectral composition of light was measured using a spectroradiometer in the range of 390–760 nm. We assessed the light transmittance of plant tissues by placing the plant tissue between the light source and the spectroradiometer's sensor. PAM fluorometry was used to quantify the photochemical activity in plant tissues: this technique is handy for evaluating the efficiency of converting light energy into chemical energy through the analysis of the kinetics of chlorophyll fluorescence excitation and quenching. On average, a photochemically active green leaf of pea transmitted 15 % of solar radiation in the 390–760 nm, blue light was delayed entirely, and the transmitted red light never exceeded 5 %. Photochemically active radiation passing through the pericarp and coat and reaching the cotyledons at the early and middle seed maturation stages manifested a high proportion of green and far-red light; there was no blue light, and the percentage of red light was about 2 %. However, the cotyledons were photochemically active regardless of low irradiance and spectral ranges untypical of leaf photosynthesis. At the early and middle maturation

stages, the maximum quantum yield of photosystem II (F_v/F_m) averaged 0.5 at the periphery of cotyledons and 0.3 at their center. Since the intensity of embryonic photochemical reactions significantly affects the efficiency of reserve nutrient accumulation, this parameter is a promising marker in pea breeding for seeds with improved nutritional qualities.

Key words: *Pisum sativum* L.; seed maturation; light transmittance of tissues; illumination intensity; photochemically active radiation; photochemical activity; PAM fluorometry.

For citation: Smolikova G.N., Stepanova N.V., Kamionskaya A.M., Medvedev S.S. Photochemical activity in developing pea (*Pisum sativum* L.) cotyledons depends on the light transmittance of covering tissues and the spectral composition of light. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(8):980-987. DOI 10.18699/VJGB-23-113

Введение

Почти три четверти продуктов питания мы получаем из семян, поэтому производство семян высокого качества – основа пищевой безопасности страны (Mattana et al., 2022). Важным фактором семенной продуктивности растений является фотосинтез, который происходит в листьях и обеспечивает формирующиеся семена необходимыми ассимилятами (Simkin et al., 2019, 2020; Walter, Kromdijk, 2021). Поэтому большинство исследований, посвященных разработке подходов, связанных с повышением продуктивности и урожайности культурных растений, сосредоточено на анализе процессов фотосинтеза на уровне листа. Однако в других органах растений (черешках листьев, стеблях, внутренней коре, плодах) также могут синтезироваться хлорофиллы и формироваться активно работающие хлоропласты, в которых происходит так называемый нелистовой фотосинтез (non-foliar photosynthesis) (Aschan, Pfanz, 2003; Тихонов и др., 2017; Hu L. et al., 2019; Henry et al., 2020; Simkin et al., 2020; Yanykin et al., 2020).

О наличии зеленых пигментов в зародышах, а также в перикарпии и семенной коже у покрытосеменных растений, известно уже с середины XIX в. (Hofmeister, 1859; Flahault, 1879; Монтеверде, Любименко, 1909). Анализ пигментов созревающих семян рапса показал, что в них содержатся хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, феофитин *a* и феофитин *b*, а также в более низком количестве феофорбид *a*, метилфеофорбид *a* и пирофеофорбид (Ward et al., 1994). При этом общее содержание хлорофиллов в расчете на единицу сырой массы, а также соотношение хлорофиллов *a/b* в зеленых зародышах ниже, чем в листьях (Булда и др., 2008; Смоликова и др., 2011; Smolikova et al., 2018, 2020). Интересно, что при сравнении содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях растений, адаптированных к условиям затенения, и в зеленых зародышах масличных семян оказалось, что их уровни приблизительно равны (Ruuska et al., 2004).

Показано, что у C_3 -растений зеленые нелистовые ткани способны реассимилировать CO_2 , который выделяется при дыхании, при этом его уровень может составлять 15–48 % от всего ассимилированного при фотосинтезе углекислого газа (Hu L. et al., 2019). Однако их вклад в общее количество синтезированных на свету ассимилятов часто игнорируется. Нелистовой фотосинтез осуществляют также формирующиеся семена многих видов растений (Borisjuk et al., 2003; Allorement et al., 2015; Смоликова, Медведев, 2016; Smolikova et al., 2017, 2018, 2020; Brazel, Ó'Maoléidigh, 2019; Hu L. et al., 2019; Grulichova et al., 2022; Shackira et al., 2022).

Впервые в мире генезис и структура пластид зародышей более 1000 видов растений были изучены эмбриоло-

гами Ботанического института им. В.Ф. Комарова РАН (Яковлев, Жукова, 1973; Yakovlev, Zhukova, 1980). Выявлено 428 видов растений, у которых формирующиеся зародыши содержат хлорофиллы и пластиды с развитыми тилакоидными мембранами. Эти виды было предложено называть хлороэмбриофитами. Позднее было установлено, что функционирование фотосинтетического аппарата семян направлено не на синтез моносахаридов, как в листьях, а на синтез запасных соединений (в первую очередь, жирных кислот) (Neuhaus, Emes, 2000; Ruuska et al., 2004; Weber et al., 2005; Allen et al., 2009; Hu Y. et al., 2018).

Установлено, что начиная с глобулярной стадии развития в зародышах арабидопсиса и рапса наблюдалась экспрессия ядерных генов, отвечающих за процессы фотосинтеза (Spencer et al., 2007; Le et al., 2010; Belmonte et al., 2013; Kremnev et al., 2014). Приоритетная функция хлоропластов семян – быстрый синтез НАДФН и АТФ, которые расходуются на превращение поступающей из материнского растения сахарозы в ацетил-CoA, жирные кислоты и далее в триглицериды (Ruuska et al., 2004; Allen et al., 2009; Puthur et al., 2013; Wu et al., 2014; Allorement et al., 2015; Shackira et al., 2022). То есть эффективность накопления запасных питательных веществ в семенах напрямую зависит от эффективности эмбриональных фотохимических реакций. Так, например, у растений рапса (*Brassica napus* L.), формирующиеся стручки которых были экранированы от света, значительно снижались масса семян, а также содержание белков и жирных кислот (Wang et al., 2023).

Как правило, зародыши семян покрыты семенной и плодовой оболочками, которые экранируют их от солнечного света и затрудняют обмен углекислого газа и кислорода. В связи с этим существенной особенностью эмбриональных фотозависимых синтетических реакций у семян является то, что источником углерода служат не CO_2 воздуха, а сахароза, поступающая из материнского растения, а также CO_2 , выделяющийся при дыхании (Ruuska et al., 2004). При этом O_2 , образующийся при фотоокислении воды, предотвращает гипоксию и поддерживает митохондриальное дыхание развивающихся семян (Borisjuk et al., 2003; Weber et al., 2005; Borisjuk, Rolletschek, 2009; Tschiersch et al., 2011; Shackira et al., 2022). Недавно на растениях сои (*Glycine max*) показано, что нелистовой фотосинтез, происходящий в перикарпе и семенах, обеспечивает до 9 % от общего суточного усвоения углерода и может компенсировать до 81 % углерода, который эти же ткани теряют в процессе дыхания (Cho et al., 2023). Однако механизмы протекания фотозависимых синтетических реакций, связанные с накоплением запасных питательных веществ, требуют более глубокого изучения.

Необходим также ответ на вопрос, как, несмотря на условия низкой освещенности, формирующиеся семена получают достаточное количество света для обеспечения энергией фотохимических реакций. Детальные исследования, посвященные выяснению спектральных характеристик света, при которых происходят фотохимические процессы в зародышах, ранее не проводили.

Целью настоящей работы был сравнительный анализ светопропускаемости и фотохимической активности листьев, перикарпа, кожуры и семядолей формирующихся семян гороха (*Pisum sativum* L.).

Материалы и методы

Объектом исследования был горох посевной (*Pisum sativum* L.) овощного сорта Прима. Сорт включен в Госреестр по Центральному и Северо-Кавказскому регионам в 2015 г. Семена морщинистые, крупные, семядоли зеленые (Беседин, 2015). Растения гороха выращивали в течение летнего сезона 2022 г. в открытом грунте в условиях естественного освещения на делянках Санкт-Петербургского государственного университета. Изучали семена на ранней, средней и поздней стадиях созревания (рис. 1). Ранняя стадия характеризуется окончанием эмбриогенеза и началом накопления запасных питательных веществ в семядолях формирующихся семян (Smolikova et al., 2018, 2020). На средней стадии активно синтезируются запасные питательные вещества, семядоли занимают весь внутренний объем семени. На поздней стадии начинаются процесс обезвоживания и переход семени в состояние покоя.

Спектральный состав света измеряли при помощи спектрометра ТКА «Спектр» (г. Санкт-Петербург). Принцип действия спектрометра основан на измерении спектральной плотности энергетической яркости источника непрерывного оптического излучения в видимой области спектра 390–760 нм. Регистрировали спектральную плотность энергетической освещенности, которая выражается в единицах энергии на m^2 (mW/m^2).

Светопропускание растительных тканей оценивали, разместив растительную ткань между источником света и датчиком спектрометра. При этом источником света служила естественная солнечная радиация.

Фотохимическую активность растительных тканей оценивали методом флуориметрии, основанной на импульсной амплитудной модуляции (PAM, Pulse Amplitude Modulation), с использованием импульсного флуориметра Walz MINI-PAM-II/B (Heinz Walz GmbH, Германия) согласно протоколу производителя (MINI-PAM-II: Manual for Standalone Use, 2018). Прибор оснащен источниками измерительного и актиничного (действующего света) с максимумом эмиссии 470 нм и детекцией флуоресценции при длинах волн > 630 нм. Интенсивность измерительного и действующего света составляла 0.05 и 190 $\mu W/m^2$ соответственно. Интенсивность вспышки насыщающего света составляла 5000 $\mu W/m^2$ с длительностью 0.6 с. Растительные ткани (листья, перикарп, кожура и семядоли) изолировали от материнского растения, помещали на влажную фильтровальную бумагу (для предотвращения подсыхания) и выдерживали в светонепроницаемых боксах для темновой адаптации в течение

20 мин. Для фиксации тканей использовали зажим 2060-B. Оценивали следующие показатели:

Fv/Fm – максимальный фотохимический квантовый выход фотосистемы II (ФС II) в момент, когда переносчики электронов в электронно-транспортной цепи хлоропластов окислены. Измеряется сразу после темновой адаптации тканей. Рассчитывается как соотношение количества квантов, используемых в разделении зарядов, к общему количеству квантов, поглощенных светособирающими комплексами (ССК):

$$Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm,$$

где Fo – базовый уровень флуоресценции при освещении измерительным светом, который не приводит к инициации потока электронов по электрон-транспортной цепи хлоропластов; Fm – максимальный уровень флуоресценции, вызванный сильным световым импульсом, при котором все реакционные центры (РЦ) фотосистем заполняются электронами; Fv – варибельность флуоресценции, которая рассчитывается путем вычитания Fo из Fm .

$Y(II)$ – эффективный квантовый выход фотохимического тушения, который измеряется на адаптированных к свету образцах: $Y(II) = (Fm' - Fo) / Fm'$.

NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. Рассчитывается по уравнению Штерна–Фолмера, согласно которому тушение флуоресценции пропорционально количеству центров тушения в ССК: $NPQ = Fm / Fm' - 1$.

Статистическая обработка данных и программное обеспечение. Все измерения выполняли в трех биологических повторностях. Количественные параметры флуоресценции хлорофиллов и соответствующие расчетные коэффициенты были получены с помощью программы WinControl-3 (Heinz Walz GmbH, Германия). Статистическую обработку проводили в Microsoft Excel 2023 с использованием стандартного пакета анализа данных. На графиках и в таблицах представлены средние арифметические значения величин и стандартные отклонения. Все данные выражены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение и обработаны при помощи Excel для Microsoft 365 с использованием встроенных инструментов статистического анализа данных. Осуществлен двухфакторный дисперсионный анализ с повторениями (ANOVA). Различия считались значимыми при доверительном уровне $p \leq 0.05$.

Результаты

Мы изучили динамику светопропускания тканей перикарпа, кожуры и семядолей при формировании семян гороха сорта Прима. Внешний вид плодов, семян и зародышей показан на рис. 1.

Светопропускание оценивали, разместив растительную ткань между солнечным светом и датчиком спектрометра. При этом солнечная радиация была контролем и принималась за 100 %. Для сравнения использовали фотосинтетически активные зеленые листья гороха, стареющие желтые листья гороха, перикарпий, кожуру, а также перикарпий и кожуру, сложенные вместе. Спектр солнечной радиации, достигающий ткани плодов, показан в Приложении (а)¹. Фотосинтетически активные зеленые

¹ Приложение см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx32.pdf>

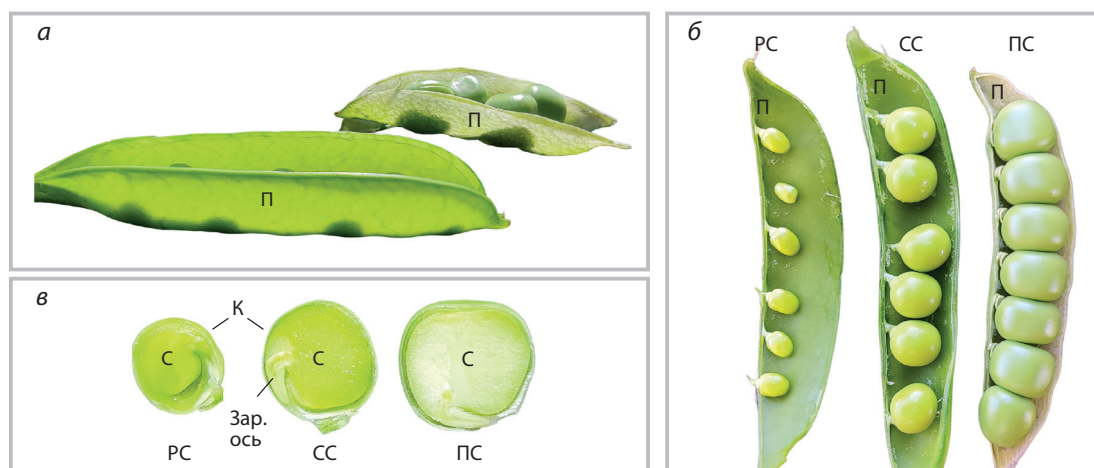


Рис. 1. Внешний вид плодов и семян гороха на ранней, средней и поздней стадиях созревания (PC, CC и PS соответственно).

а – рисунок демонстрирует высокое светопропускание перикарпия; б – плоды с семенами; в – семена в продольном разрезе. П – перикарп; К – кожура; С – семядоли; зар. ось – зародышевая ось, включающая корень, гипокотиль, эпикотиль и почечку.

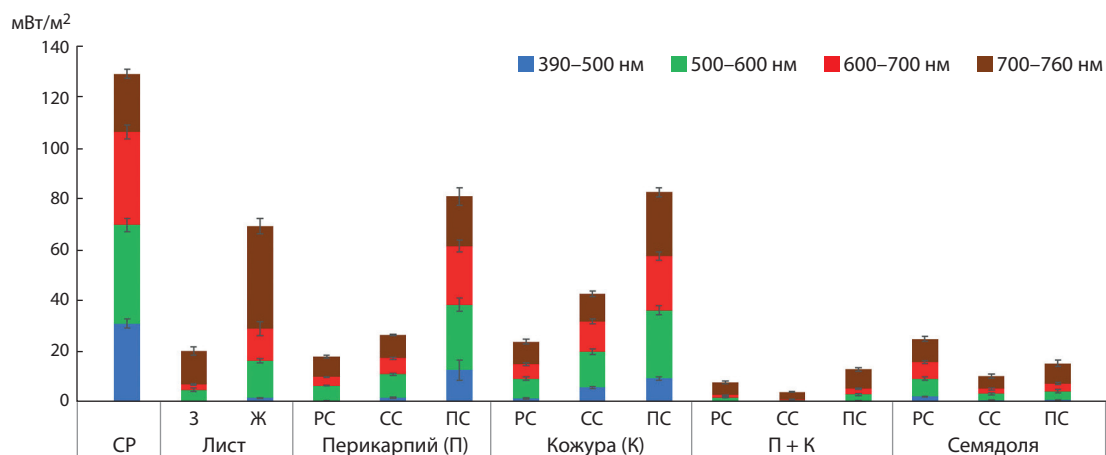


Рис. 2. Динамика светопропускания растительных тканей гороха на ранней (PC), средней (CC) и начале поздней стадиях (PS) созревания семян.

Синие, зеленые, красные и коричневые столбики показывают спектральную плотность энергетической освещенности (мВт/м²) в диапазоне 390–500, 500–600, 600–700 и 700–760 нм соответственно. СР – солнечная радиация. Данные представлены как среднее арифметическое и его стандартное отклонение, полученные в трех биологических повторностях.

листья гороха полностью задерживали синий и красный свет в диапазонах, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов и каротиноидов, частично пропускали зеленый и желтый свет и полностью пропускали дальний красный свет (см. Приложение, б). При старении хлорофиллы разрушались и количество проходящего сквозь желтые листья синего и красного света увеличилось (см. Приложение, в).

Зеленые ткани перикарпия и кожуры на средней стадии созревания по отдельности пропускали синий и красный свет (см. Приложение, з, д). Однако вместе они его задерживали, и в результате до семядолей в основном доходил свет в диапазоне 500–650 и 700–770 нм и небольшое количество света в диапазоне – 600–700 нм (см. Приложение, е). Высокое светопропускание («прозрачность») перикарпия можно визуально оценить на рис. 1, а.

Далее мы оценивали динамику светопропускания (рис. 2) и сопряженную с ней фотохимическую актив-

ность (рис. 3) при созревании семян гороха на ранней, средней и начале поздней стадиях созревания. Спектральная плотность энергетической освещенности солнечной радиации, которая достигала поверхности листьев и перикарпия плодов, составляла в среднем 136 мВт/м² (см. рис. 2). При этом количество синего и красного света (фотосинтетически активного спектрального диапазона) было равно 32 и 39 мВт/м² (1:1). Эти значения принимали за 100 % и далее рассчитывали в процентах количество «проходящего» света.

Листья. Фотохимическая активность зеленого листа была высокой ($Fv/Fm = 0.71 \pm 0.01$, $Y(II) = 0.65 \pm 0.01$) (см. рис. 3). Сквозь зеленый лист проходило 20 мВт/м² (15 %) (см. рис. 2). При этом синий свет не проходил совсем, а интенсивность проходящего красного света составляла 2 мВт/м² (5 %). При старении листа хлорофиллы разрушались и фотохимическая активность снижалась ($Fv/Fm = 0.33 \pm 0.03$, $Y(II) = 0.18 \pm 0.03$). В результате сквозь ста-

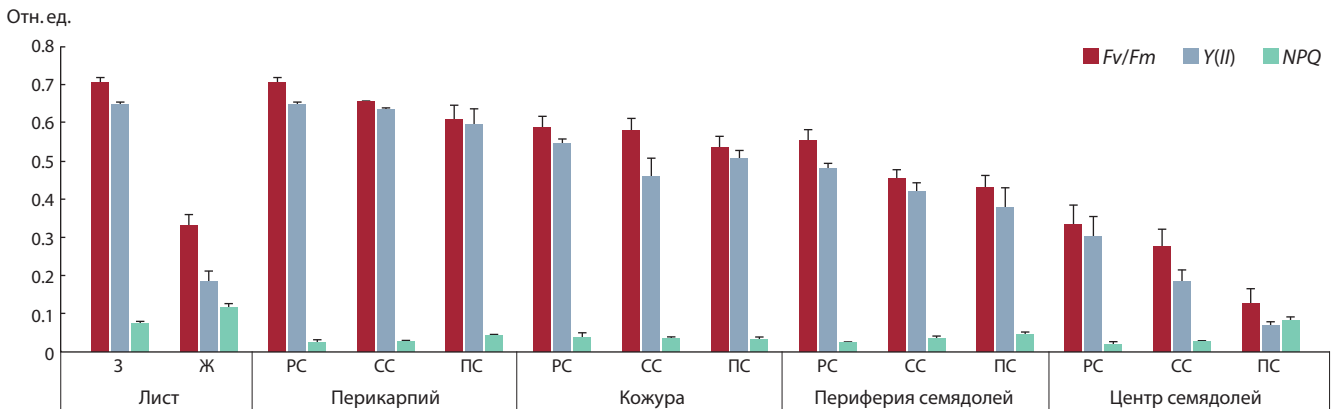


Рис. 3. Фотохимическая активность растительных тканей гороха на ранней (PC), средней (CC) и начале поздней стадиях (ПС) созревания семян. Fv/Fm и $Y(II)$ – максимальный и эффективный квантовый выход ФС II соответственно. NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофиллов. Данные представлены как среднее арифметическое и его стандартное отклонение, полученные в трех биологических повторностях. Двухфакторный дисперсионный анализ с повторениями (ANOVA) показал достоверные изменения по главному фактору «фотохимическая активность» ($F(2) = 1282, p < 0.001$), по главному фактору «растительные ткани» ($F(13) = 63, p < 0.001$) и по взаимодействию двух факторов ($F(26.84) = 19, p < 0.001$).

реющий желтый лист проходило уже 69 мВт/м^2 (51 %) с повышением доли синего и красного света до 1.7 мВт/м^2 (5 %) и 12.7 мВт/м^2 (32 %). Старение листа сопровождалось повышением показателя NPQ , характеризующего нефотохимическое тушение флуоресценции, с 0.07 ± 0.01 до 0.12 ± 0.01 .

Перикарпий. На ранней стадии созревания семян перикарпий пропускал 18 мВт/м^2 (13 %), что близко к показателям зеленого фотосинтезирующего листа (см. рис. 2). Но доля синего и красного света, которые проходили сквозь перикарпий, была выше и составляла 0.5 мВт/м^2 (1.5 %) и 3.5 мВт/м^2 (8.9 %). Фотохимическая активность была высокой (на уровне зеленого листа) и была равна для $Fv/Fm = 0.69 \pm 0.02$ и для $Y(II) = 0.68 \pm 0.01$ (см. рис. 3). На средней стадии созревания семян количество света, проходящего через перикарпий, повышалось до 26 мВт/м^2 (19 %), а синего и красного света – до 1.8 мВт/м^2 (5.6 %) и 6.4 мВт/м^2 (16.4 %). Фотохимическая активность при этом снижалась незначительно ($Fv/Fm = 0.65 \pm 0.01$, $Y(II) = 0.64 \pm 0.01$). Более существенное снижение Fv/Fm происходило при переходе к поздней стадии созревания ($Fv/Fm = 0.61 \pm 0.04$, $Y(II) = 0.60 \pm 0.04$). При этом ткань перикарпия становилась еще более светопропускаемой: количество проходящего света повышалось до 81 мВт/м^2 (60 %), а синего и красного света – до 12.6 мВт/м^2 (39 %) и 23.1 мВт/м^2 (59 %).

Кожура. У кожуры от ранней к поздней стадии созревания семян показатели Fv/Fm и $Y(II)$ существенно не менялись, но были немного ниже, чем у перикарпия (см. рис. 3). Общее количество проходящего света при этом увеличивалось от 24 до 83 мВт/м^2 (от 18 до 61 %), синего света – от 1.5 до 9.4 мВт/м^2 (от 4.6 до 24.1 %), красного света – от 5.7 до 21.4 мВт/м^2 (от 17.8 до 54.8 %) (см. рис. 2).

Семядоли. Вариант перикарпий + кожура (П+К) характеризует количество и спектральный состав света, который проходит через перикарпий, кожуру и достигает семядолей. На фотохимически активных ранней и средней стадиях созревания семян количество проходящего света составляло не более 8 мВт/м^2 (6 %), синий свет не

поступал совсем, а красный был менее 1 мВт/м^2 (менее 2 %) (см. рис. 2). Удивительно, но даже при таких малых количествах световой энергии в семядолях, пусть и с низкой эффективностью, осуществлялись фотохимические процессы. Фотохимическую активность семядолей оценивали снаружи (на периферии) и внутри (для этого их разрезали продольно). На ранней стадии Fv/Fm был равен 0.55 ± 0.03 на периферии семядолей и 0.33 ± 0.05 внутри семядолей (см. рис. 3). На поздней стадии Fv/Fm снижался до 0.43 ± 0.03 на периферии семядолей и 0.13 ± 0.04 в центре семядолей, $Y(II)$ показывал сходную динамику, но был ниже, чем Fv/Fm . На этой стадии также наблюдалось повышение показателя NPQ , характеризующего нефотохимическое тушение флуоресценции, с 0.02 ± 0.01 до 0.08 ± 0.01 .

Интересно, что семядоли также были проницаемы для солнечного света. На ранней стадии созревания они пропускали 25 мВт/м^2 (18 %), примерно столько же, сколько перикарпий и кожура (см. рис. 2). Но через них проходило больше синего (2.2 мВт/м^2 , 6.9 %) и красного света (6.4 мВт/м^2 , 16.4 %). Однако далее, по мере накопления запасных питательных веществ, количество проходящего света снижалось до $10\text{--}15 \text{ мВт/м}^2$ (8–10 %).

Обсуждение

Семена производят большое количество разнообразных запасных соединений, обеспечивая до 70 % необходимого человеку количества калорий прямо (в виде пищи) или косвенно (в форме кормов для животных) (Sreenivasulu, Wobus, 2013; Ingram et al., 2018; Mattana et al., 2022). Синтез запасных соединений, ограниченный низкой скоростью диффузии кислорода в плотных тканях семени, требует значительного количества энергии и ассимилятов, которые обеспечиваются за счет фотосинтеза (Walter, Kromdijk, 2021). При этом у многих видов растений, так называемых хлороэмбриофитов, для формирования семян необходимы не только фотосинтез листьев материнского растения, но и фотохимические процессы, обеспечивающие синтез АТФ и восстановление НАДФН⁺ (Borisjuk et al., 2005; Weber et al., 2005; Puthur et al., 2013; Смоликова,

Медведев, 2016; Smolikova et al., 2018, 2020; Sela et al., 2020; Shackira et al., 2022; Cho et al., 2023).

Ранее мы показали, что синтез хлорофиллов и появление хлоропластов с хорошо развитой гранальной структурой в зародышах семян *P. sativum* происходят на самых ранних этапах эмбриогенеза (Smolikova et al., 2018, 2020). То есть, несмотря на то что формирующиеся семена покрыты семенной и плодовой оболочками, которые экранируют их от солнечного света, они получают достаточное количество света для синтеза хлорофиллов и формирования хлоропластов с развитой гранальной структурой. Однако оставался открытым вопрос о спектральном диапазоне светового потока, достигающего зеленого зародыша, и интенсивности освещения, при котором происходит их фотохимическая активность.

Объектом нашего исследования являлись семена гороха на ранней, средней и поздней стадиях созревания (см. рис. 1). С использованием спектрорадиометра и РАМ-флуориметра мы провели сравнительный анализ светопропускания (см. рис. 2) и фотохимической активности (см. рис. 3) листьев, перикарпия, кожуры и семядолей формирующихся семян.

Известно, что в диапазоне от 400 до 700 нм зеленые листья растений в среднем поглощают около 85 % света, отражают около 10 % и пропускают около 5 % (Atwell et al., 1999). Однако эти показатели могут сильно варьировать в зависимости от вида растений и условий их произрастания. В наших экспериментах фотохимически активный зеленый лист гороха пропускал в среднем 15 % солнечной радиации (в диапазоне 390–760 нм); при этом синий свет задерживался листом полностью, а количество проходящего красного света составляло не более 5 %.

Фотохимически активная ткань перикарпия на ранней и средней стадиях созревания семян гороха пропускала к семенной кожуре от 13 до 19 % солнечной радиации; доля синего света составляла от 1.5 до 6 %, а доля красного света – от 9 до 16 %. К периферии формирующихся семядолей поступал свет в диапазоне 500–650 и 700–770 нм (6 % от солнечной радиации), при этом синий свет отсутствовал совсем, а количество красного света (620–700 нм) составляло около 2 %. При старении покровных тканей на поздней стадии созревания семян хлорофиллы в покровных тканях разрушались и количество проходящего красного света, достигающего семядолей, возрастало.

Интересно, что несмотря на низкую энергетическую освещенность, фотохимические процессы протекают даже в центре семядолей, хотя их эффективность невысока. При этом фотохимическая активность семядолей регистрируется при практически полном отсутствии синего света, низком уровне красного света и сравнительно высоком уровне желтого и зеленого света. На ранней стадии созревания семян показатель Fv/Fm был равен 0.55 ± 0.03 на периферии семядолей и 0.33 ± 0.05 внутри семядолей (см. рис. 3).

Чем можно объяснить фотохимическую активность семядолей при низких плотностях светового потока и спектральных диапазонах, которые не характерны для фотосинтеза листа? Мы предполагаем, что в семядолях формирующихся семян зеленый свет может частично компенсировать отсутствие синего света и тем самым

повышать количество световой энергии. Эта компенсация может происходить в диапазоне 500–550 нм, световую энергию которого могут поглощать присутствующие в зародышах каротиноиды (Смоликова, Медведев, 2015).

Долгое время считалось, что свет в диапазоне 500–600 нм имеет второстепенное значение в биологии растений. Действительно, листья растений не поглощают фотоны равномерно по всему диапазону фотосинтетически активной радиации (ФАР), а спектральное поглощение зеленого света фотосистемами хлоропластов намного ниже по сравнению с синим и красным светом (Kume, 2017). Однако в последние годы появились доказательства того, что зеленый свет не только поглощается тканями растений, но и участвует в регуляции ряда физиологических реакций (Головацкая, Карначук, 2015; Smith et al., 2017). Предполагается, что синий и красный спектры преимущественно поглощаются поверхностными клетками столбчатого мезофилла листа, в то время как зеленый свет может проникать в более глубокие слои тканей листа, способствуя возбуждению фотосистем в клетках губчатого мезофилла (Nishio, 2000; Terashima et al., 2009; Brodersen, Vogelmann, 2010).

В работе (Liu, van Iersel, 2021) проведена оценка квантового выхода ассимилированного CO_2 (QY) в листьях салата, выращиваемого при разных спектральных диапазонах освещения (синий, зеленый, красный) и разной плотности фотосинтетического фотонного потока (PPFD, photosynthetic photon flux density) (30–1300 ммоль фотонов/м²/с). Оказалось, что при высоком PPFD и освещении зеленым светом показатель QY был выше, чем при освещении синим и красным светом. Авторы предполагают, что это связано с тем, что при сильном освещении зеленый свет более равномерно распределяется внутри листа. В опытах на листьях подсолнечника также было показано, что при умеренном или сильном белом свете добавление зеленого света более эффективно стимулирует фотосинтез, чем добавление красного света (Terashima et al., 2009).

В недавно опубликованной работе X. Lv с коллегами (2022), выполненной на растениях *Zingiber officinale* Roscoe, показано, что добавление к белому спектру зеленого света не только способствовало увеличению фотохимических показателей Fv/Fm и $Y(II)$, но и приводило к увеличению количества крахмальных зерен и толщины листа. Интенсивный зеленый свет, с одной стороны, способствовал увеличению скорости потока электронов по электрон-транспортной цепи ФС II, а с другой стороны, не вызывал накопления АФК (что обычно происходит при световом стрессе, вызываемом красным светом). Авторы связывают это с более эффективным тепловым рассеиванием излишков энергии зеленого света.

В наших опытах установлено, что к периферии формирующихся семядолей поступает ФАР, который включает практически всю зеленую часть спектра, а также небольшое количество красного света. Не исключено, что проникающий сквозь толщу тканей зародышей зеленый свет может влиять на эффективность усвоения углерода и служить хорошим аргументом в пользу использования зеленых длин волн при выращивании сельскохозяйственных культур. Однако это гипотеза требует проведения дополнительных исследований.

Заклучение

Полученные данные позволяют глубже понять механизмы протекания фотохимических процессов в зародышах семян в условиях низкой интенсивности света. Мы считаем, что интенсивность эмбриональных фотохимических реакций в значительной степени влияет на эффективность накопления запасных питательных веществ и поэтому может рассматриваться как маркер для селекции семян с улучшенными пищевыми качествами. Перспективными также являются исследования по оптимизации получения семян высокого качества путем усиления фотохимической активности их зародышей за счет варьирования параметров освещения.

Список литературы / References

- Беседин А.Г. Прима – новый сорт гороха овощного. *Овощи России*. 2015;3(28):96-97
[Besedin A.G. Prima is a new cultivar of vegetable pea. *Ovoshchi Rossii = Vegetable Crops of Russia*. 2015;3(28):96-97 (in Russian)]
- Булда О.В., Рассадина В.В., Алексейчук Г.Н., Ламан Н.А. Спектрофотометрический метод определения содержания каротиноидов, ксантофиллов и хлорофиллов в экстрактах семян растений. *Физиология растений*. 2008;55(4):604-611
[Bulda O.V., Rassadina V.V., Alekseychuk H.N., Laman N.A. Spectrophotometric measurement of carotenes, xanthophylls, and chlorophylls in extracts from plant seeds. *Russ. J. Plant Physiol.* 2008; 55(4):544-551. DOI 10.1134/S1021443708040171]
- Головацкая И.Ф., Карначук Р.А. Роль зеленого света в жизнедеятельности растений. *Физиология растений*. 2015;62(6):776-791. DOI 10.7868/S0015330315060081
[Golovatskaya I.F., Karnachuk R.A. Role of green light in physiological activity of plants. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015;62(6):727-740. DOI 10.1134/S1021443715060084]
- Монтеверде Н.А., Любименко В.Н. О зеленом пигменте внутренней оболочки семян *Cucurbitaceae* и его отношении к хлорофиллу. *Изв. Санкт-Петербургского бот. сада*. 1909;9:2-3
[Monteverde N.A., Lyubimenko V.N. On the green pigment of the inner coat of *Cucurbitaceae* seeds and its relation to chlorophyll. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo Botanicheskogo Sada = Proceeding of the St. Petersburg Botanical Garden*. 1909;9:2-3 (in Russian)]
- Смоликова Г.Н., Ламан Н.А., Борискевич О.В. Роль хлорофиллов и каротиноидов в устойчивости семян к абиотическим стрессорам. *Физиология растений*. 2011;58(6):817-825
[Smolikova G.N., Laman N.A., Boriskevich O.V. Role of chlorophylls and carotenoids in seed tolerance to abiotic stressors. *Russ. J. Plant Physiol.* 2011;58(6):965-973. DOI 10.1134/S1021443711060161]
- Смоликова Г.Н., Медведев С.С. Каротиноиды семян: синтез, разнообразие и функции. *Физиология растений*. 2015;62(1):3-16. DOI 10.7868/S0015330315010133
[Smolikova G.N., Medvedev S.S. Seed carotenoids: Synthesis, diversity, and functions. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015;62(1):1-13. DOI 10.1134/S1021443715010136]
- Смоликова Г.Н., Медведев С.С. Фотосинтез в семенах хлороэмбриофитов. *Физиология растений*. 2016;63(1):3-16. DOI 10.7868/S0015330315060160
[Smolikova G.N., Medvedev S.S. Photosynthesis in the seeds of chloroembryophytes. *Russ. J. Plant Physiol.* 2016;63(1):1-12. DOI 10.1134/S1021443715060163]
- Тихонов К.Г., Христин М.С., Климов В.В., Сундырева М.А., Креславский В.Д., Сидоров Р.А., Цыдендамбаев В.Д., Савченко Т.В. Структурные и функциональные особенности фотосинтетического аппарата хлорофилл-содержащих тканей виноградной лозы. *Физиология растений*. 2017;64(1):69-80. DOI 10.7868/S0015330316060117
- [Tikhonov K.G., Khristin M.S., Klimov V.V., Sundireva M.A., Kreslavski V.D., Sidorov R.A., Tsidendambayev V.D., Savchenko T.V. Structural and functional characteristics of photosynthetic apparatus of chlorophyll-containing grape vine tissue. *Russ. J. Plant Physiol.* 2017;64(1):73-82. DOI 10.1134/S102144371606011X]
- Яковлев М.С., Жукова Г.Я. Покрытосеменные растения с зеленым и бесцветным зародышем (хлоро- и лейкоэмбриофиты). Ленинград: Наука, 1973
[Yakovlev M.S., Zhukova G.Ya. Angiosperms with Green and Colorless Embryos (Chloro- and Leucoembryophytes). Leningrad: Nauka Publ., 1973 (in Russian)]
- Allen D.K., Ohlrogge J.B., Shachar-Hill Y. The role of light in soybean seed filling metabolism. *Plant J.* 2009;58(2):220-234. DOI 10.1111/j.1365-313X.2008.03771.x
- Allont G., Osorio S., Ly Vu J., Falconet D., Jouhet J., Kuntz M., Fernie A.R., Lerbs-Mache S., Macherel D., Courtois F., Finazzi G. Adjustments of embryonic photosynthetic activity modulate seed fitness in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 2015;205(2):707-719. DOI 10.1111/nph.13044
- Aschan G., Pfanz H. Non-foliar photosynthesis – A strategy of additional carbon acquisition. *Flora*. 2003;198(2):81-97. DOI 10.1078/0367-2530-00080
- Atwell B.J., Kriedemann P.E., Turnbull C.G.N. (Eds.). Light use and leaf gas exchange. In: *Plants in Action: Adaptation in Nature, Performance in Cultivation*. Melbourne: Macmillan Education Australia, 1999;23-44
- Belmonte M.F., Kirkbride R.C., Stone S.L., Pelletier J.M., Bui A.Q., Yeung E.C., Hashimoto M., Fei J., Harada C.M., Munoz M.D., Le B.H., Drews G.N., Brady S.M., Goldberg R.B., Harada J.J. Comprehensive developmental profiles of gene activity in regions and sub-regions of the *Arabidopsis* seed. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110(5):E435-E444. DOI 10.1073/pnas.1222061110
- Borisjuk L., Rolletschek H. The oxygen status of the developing seed. *New Phytol.* 2009;182(1):17-30. DOI 10.1111/j.1469-8137.2008.02752.x
- 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. *Plant J.* 2003;36(3): 318-329. DOI 10.1046/j.1365-313X.2003.01879.x
- Borisjuk L., Nguyen T.H., Neuberger T., Rutten T., Tschiersch H., Claus B., Feussner I., Webb A.G., Jakob P., Weber H., Wobus U., Rolletschek H. Gradients of lipid storage, photosynthesis and plastid differentiation in developing soybean seeds. *New Phytol.* 2005; 167(3):761-776. DOI 10.1111/j.1469-8137.2005.01474.x
- Brazel A.J., Ó'Maoiléidigh D.S. Photosynthetic activity of reproductive organs. *J. Exp. Bot.* 2019;70(6):1737-1754. DOI 10.1093/jxb/erz033
- Brodersen C.R., Vogelmann T.C. Do changes in light direction affect absorption profiles in leaves? *Funct. Plant Biol.* 2010;37(5):403. DOI 10.1071/FP09262
- 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 Physiol.* 2023;193(2):966-979. DOI 10.1093/plphys/kiad324
- Flahault M.C. Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits à l'influence de la lumière. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 1879;26:249-259
- Grulichova M., Sedlakova V., Trojan V., Hanacek P., Vyhnanek T. Correlation of photosynthetic pigments content with indicators of seed quality in the seeds of carrot, celery, dill, parsley, and parsnip. *J. Seed Sci.* 2022;44(3):e202244031. DOI 10.1590/2317-1545v44e20220767
- Henry R.J., Furtado A., Rangan P. Pathways of photosynthesis in non-leaf tissues. *Biology (Basel)*. 2020;9(12):438. DOI 10.3390/biology9120438
- Hofmeister W. Neue Beiträge zur Kenntniss der Embryobildung der Phanerogamen. I. Dikotyledonen mit ursprünglich einzelligem, nur durch Zellteilung waschendem Endosperm. *Abhandl. Königl. Sächs. Ges. Wiss.* 1859;6:535-672

- Hu L., Zhang Y., Xia H., Fan S., Song J., Lv X., Kong L. Photosynthetic characteristics of non-foliar organs in main C₃ cereals. *Physiol. Plant.* 2019;166(1):226-239. DOI 10.1111/pp.12838
- 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". *Front. Plant Sci.* 2018;8:2179. DOI 10.3389/fpls.2017.02179
- Ingram G., North H., Lepiniec L. Seeds as perfect factories for developing sustainable agriculture. *Plant Reprod.* 2018;31(3):201-202. DOI 10.1007/s00497-018-0340-7
- Kremnev D., Strand Å. Plastid encoded RNA polymerase activity and expression of photosynthesis genes required for embryo and seed development in Arabidopsis. *Front. Plant Sci.* 2014;5. DOI 10.3389/fpls.2014.00385
- Kume A. Importance of the green color, absorption gradient, and spectral absorption of chloroplasts for the radiative energy balance of leaves. *J. Plant Res.* 2017;130(3):501-514. DOI 10.1007/s10265-017-0910-z
- 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., Okamoto J.K., Harada J.J., Goldberg R.B. Global analysis of gene activity during Arabidopsis seed development and identification of seed-specific transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010;107(18):8063-8070. DOI 10.1073/pnas.1003530107
- Liu J., van Iersel M.W. Photosynthetic physiology of blue, green, and red light: light intensity effects and underlying mechanisms. *Front. Plant Sci.* 2021;12:619987. DOI 10.3389/fpls.2021.619987
- 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;259(6):1477-1491. DOI 10.1007/s00709-022-01748-z
- Mattana E., Ulian T., Pritchard H.W. Seeds as natural capital. *Trends Plant Sci.* 2022;27(2):139-146. DOI 10.1016/j.tplants.2021.08.008
- MINI-PAM-II: Manual for Standalone Use, 3rd ed. Effeltrich (Germany): Heinrich Walz GmbH, 2018
- Neuhaus H.E., Emes M.J. Nonphotosynthetic metabolism in plastids. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 2000;51:111-140. DOI 10.1146/annurev.arplant.51.1.111
- Nishio J.N. Why are higher plants green? Evolution of the higher plant photosynthetic pigment complement. *Plant Cell Environ.* 2000; 23(6):539-548. DOI 10.1046/j.1365-3040.2000.00563.x
- Puthur J.T., Shackira A.M., Saradhi P.P., Bartels D. Chloroembryos: A unique photosynthesis system. *J. Plant Physiol.* 2013;170(13): 1131-1138. DOI 10.1016/j.jplph.2013.04.011
- Ruuska S.A., Schwender J., Ohlrogge J.B. The capacity of green oilseeds to utilize photosynthesis to drive biosynthetic processes. *Plant Physiol.* 2004;136:2700-2709. DOI 10.1104/pp.104.047977.green
- Sela A., Piskurewicz U., Megies C., Mène-Saffrané L., Finazzi G., Lopez-Molina L. Embryonic photosynthesis affects post-germination plant growth. *Plant Physiol.* 2020;182(4):2166-2181. DOI 10.1104/PP.20.00043
- 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 Physiol. Rep.* 2022;27(4):573-579. DOI 10.1007/s40502-022-00695-4
- Simkin A.J., López-Calcaño P.E., Raines C.A. Feeding the world: improving photosynthetic efficiency for sustainable crop production. *J. Exp. Bot.* 2019;70(4):1119-1140. DOI 10.1093/jxb/ery445
- Simkin A.J., Faralli M., Ramamoorthy S., Lawson T. Photosynthesis in non-foliar tissues: implications for yield. *Plant J.* 2020;101(4): 1001-1015. DOI 10.1111/tj.14633
- Smith H.L., McAusland L., Murchie E.H. Don't ignore the green light: exploring diverse roles in plant processes. *J. Exp. Bot.* 2017;68(9): 2099-2110. DOI 10.1093/jxb/erx098
- Smolikova G., Dolgikh E., Vikhnina M., Frolov A., Medvedev S. Genetic and hormonal regulation of chlorophyll degradation during maturation of seeds with green embryos. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(9):1993. DOI 10.3390/ijms18091993
- 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. *Funct. Plant Biol.* 2018;45(2):228-235. DOI 10.1071/FP16379
- 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. *Funct. Plant Biol.* 2020;47(5):409-424. DOI 10.1071/FP19270
- Spencer M.W.B.B., Casson S.A., Lindsey K. Transcriptional profiling of the Arabidopsis embryo. *Plant Physiol.* 2007;143(2):924-940. DOI 10.1104/pp.106.087668
- Sreenivasulu N., Wobus U. Seed-development programs: a systems biology-based comparison between dicots and monocots. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013;64(1):189-217. DOI 10.1146/annurev-arplant-050312-120215
- 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 Cell Physiol.* 2009;50(4):684-697. DOI 10.1093/pcp/pcp034
- Tschiersch H., Borisjuk L., Rutten T., Rolletschek H. Gradients of seed photosynthesis and its role for oxygen balancing. *BioSystems.* 2011;103(2):302-308. DOI 10.1016/j.biosystems.2010.08.007
- Walter J., Kromdijk J. Here comes the sun: How optimization of photosynthetic light reactions can boost crop yields. *J. Integr. Plant Biol.* 2021;64(2):564-591. DOI 10.1111/jipb.13206
- Wang C., Yang J., Chen W., Zhao X., Wang Z. Contribution of the leaf and silique photosynthesis to the seeds yield and quality of oilseed rape (*Brassica napus* L.) in reproductive stage. *Sci. Rep.* 2023; 13(1):4721. DOI 10.1038/s41598-023-31872-6
- Ward K., Scarth R., Daun J.K., Thorsteinson C.T. Characterization of chlorophyll pigments in ripening canola seed (*Brassica napus*). *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1994;71(12):1327-1331. DOI 10.1007/BF02 541349
- Weber H., Borisjuk L., Wobus U. Molecular physiology of legume seed development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2005;56:253-279. DOI 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144201
- 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. *J. Integr. Plant Biol.* 2014;56(6):582-593. DOI 10.1111/jipb.12158
- Yakovlev M.S., Zhukova G.Y. Chlorophyll in embryos of angiosperm seeds, a review. *Bot. Notiser.* 1980;133:323-336
- Yanykin D., Sundyeva M., Khorobrykh A., Semenova G., Savchenko T. Functional characterization of the cortical photosynthetic apparatus in grapevine. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 2020; 1861(11):148260. DOI 10.1016/j.bbabi.2020.148260

ORCID

G.N. Smolikova orcid.org/0000-0001-5238-1851
A.M. Kaminskaya orcid.org/0000-0001-9815-9578
S.S. Medvedev orcid.org/0000-0003-1127-1343

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00273 (<https://rscf.ru/project/22-26-00273>).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 02.08.2023. После доработки 10.09.2023. Принята к публикации 28.09.2023.