

ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ (*Zea mays* L.) ПО СОДЕРЖАНИЮ ХЛОРОФИЛЛОВ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *psaA* И *psbA* ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГИБРИДОВ КОРМОВОГО НАПРАВЛЕНИЯ*

Д.Х. АРХЕСТОВА[✉], А.Х. ГЯУРГИЕВ, Р.А. ГАЖЕВА, А.Д. ХАУДОВ,
А.И. САРБАШЕВА

Кукуруза (*Zea mays* L.) занимает одно из ведущих мест среди кормовых растений. Основные пигменты фотосинтеза — хлорофиллы а и b играют важную роль в определении физиологического состояния растений, оценке воздействия стрессовых факторов и прогнозировании продуктивности. Известно, что хлорофиллы и их производные — фитол и фитановая кислота крайне важны для млекопитающих благодаря положительному влиянию при метаболических дисфункциях. Содержание фитола и фитановой кислоты напрямую зависит от количества хлорофилла в кормах. В связи с этим обеспечение жвачных животных кормами с высоким содержанием хлорофилла позволит повысить качество получаемых продуктов животного происхождения. В представленном исследовании впервые были выявлены образцы с высоким содержанием хлорофиллов в листьях, а также показана взаимосвязь между накоплением общих хлорофиллов и экспрессией генов фотосистем, в частности транскрипцией генов *psaA* и *psbA*, в селекционных линиях кукурузы коллекции ИСХ КБНЦ РАН. Целью работы стала оценка содержания хлорофилла а и хлорофилла b в перспективных селекционных линиях кукурузы из коллекции Института сельского хозяйства — филиала ФГБНУ ФНЦ Кабардино-Балкарского научного центра РАН (ИСХ КБНЦ РАН) для выделения линий кормового направления с повышенным содержанием хлорофиллов и дальнейшего их использования в селекции, а также определение возможных корреляций между содержанием хлорофиллов и экспрессией генов *psaA* и *psbA*. Для анализа отобрали 150 селекционных линий кукурузы из коллекции ИСХ КБНЦ РАН, используемых для получения сортов и гибридов зернового и универсального направления. Растения были выращены на опытных участках ИСХ КБНЦ РАН в 2023 году. Содержание хлорофиллов а и b в листьях определяли с использованием реактива Фолча. Для этого через 5–6 сут после опыления около полудня отбирали листья пятого яруса у второго растения в ряду. Листовые диски вырезали из середины листа, избегая средних жилок, гомогенизировали в жидком азоте и замораживали при температуре –80 °С. Экспрессию генов *psaA* и *psbA* определяли в тех же гомогенизированных в жидком азоте тканях, для которых проводили измерение содержания хлорофиллов, с помощью количественной ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР). Статистический анализ проводили с использованием программ Microsoft Excel 2013 и Graph Pad Prism v.9. Результаты показали значительные различия в содержании хлорофиллов в листьях среди анализируемых образцов. По суммарному количеству хлорофиллов линии кукурузы были разделены на три группы: с высоким (> 400 мкг/г, 21 образец), средним (200–400 мкг/г, 91 образец) и низким (< 200 мкг/г, 38 образцов) содержанием. Максимальное количество хлорофилла а было выявлено у линии 726 (608,95 мкг/г), минимальное — у линии 804 (88,95 мкг/г) (6,85-кратная разница). Количественное соотношение хлорофилл а/хлорофилл b у разных линий находилось в диапазоне от 1,72 до 2,65, что согласуется с ранее полученными данными для кукурузы. Экспрессия генов фотосистем *psaA* и *psbA* положительно коррелировала с содержанием хлорофиллов. Так, у линий 726 и 944 (максимальное содержание общих хлорофиллов) транскрипция гена *psaA* была в 5,8 раза выше, а *psbA* — в 4,6 раза выше по сравнению с линиями 804 и 849 (минимальное содержание общих хлорофиллов). Полученные результаты демонстрируют значительную вариабельность содержания хлорофиллов и экспрессии генов фотосистем среди линий кукурузы. Выделенные линии с высоким содержанием хлорофиллов (линии 726, 728, 760, 847, 935, 944, 2193, 8007) могут послужить материалом для селекции гибридов кукурузы на высокую продуктивность и улучшенные кормовые характеристики.

Ключевые слова: *Zea mays* L., кукуруза, хлорофилл а, хлорофилл b, фотосинтез, экспрессионный анализ, экспрессия генов, *psaA*, *psbA*.

Кукуруза (*Zea mays* L.) — ключевая продовольственная культура, которая также занимает одно из ведущих мест среди кормовых растений. Силовосная кукуруза, специально выведенная для использования в качестве кормовой культуры, имеет легкоусвояемые волокна в сочетании с высоким содержанием крахмала и сахара, необходимыми для правильного силосования.

* Работа выполнена в рамках Федерального проекта «Аграрная наука — шаг в будущее развитие агропромышленного комплекса», направление 4.1.1.

Силосная кукуруза может давать высокие урожаи биомассы с высокими показателями валовой энергии и служит ценным кормом для жвачных животных. Повышение ее питательной ценности — один из важных факторов, способствующих улучшению кормопроизводства и потенциальному повышению продуктивности животноводства (1).

В Российской Федерации ведутся исследования по созданию новых гибридов кукурузы, адаптированных к различным климатическим условиям и обладающих высокой урожайностью (2). Кроме того, хоть и с меньшей интенсивностью, изучаются вопросы консервирования и хранения кукурузного силоса, оценивается его качество и питательная ценность для силосования (3). За рубежом, особенно в США и Европе, в последние десятилетия значительное внимание уделяется созданию гибридов кормовой кукурузы с улучшенными характеристиками, в частности с высоким выходом вегетативной массы в сочетании с повышенной питательной ценностью (1).

Первоначально предполагалось, что генотипы кукурузы с высокой урожайностью зерна также дают высокий урожай биомассы. Однако исследования показали, что увеличенная силосная масса не достигается при высокой продуктивности зерна, поскольку физиология гибридов кукурузы на силос отличается от таковой у зерновой кукурузы (1). При этом прирост вегетативной массы коррелирует с содержанием хлорофилла (4).

В хлоропластах высших растений присутствуют два типа хлорофиллов — хлорофилл *a* и хлорофилл *b*. Основной пигмент фотосинтеза — хлорофилл *a* улавливает фотоны и передает их к реакционным центрам фотосистем I и II, тогда как хлорофилл *b* служит вспомогательным пигментом, ответственным за передачу световой энергии хлорофиллу *a*. Эффективность работы фотосистем растений, в частности кукурузы, во многом определяется экспрессией генов, кодирующих ключевые компоненты фотосинтетического аппарата, прежде всего хлорофиллы (5). Среди этих генов особое значение имеют гены *psaA* и *psbA*, кодирующие белки реакционных центров соответственно фотосистем I и II. Ген *psaA* кодирует белок PsaA, один из основных компонентов реакционного центра фотосистемы I (6), тогда как ген *psbA* кодирует белок D1 — ключевой компонент реакционного центра фотосистемы II (7). Изменения в экспрессии этих генов могут оказывать значительное влияние на эффективность фотосинтеза и, как следствие, на продуктивность растений.

Химическая структура обоих хлорофиллов включает порфириновое кольцо с центральным ионом магния и присоединенную сложноэфирной связью длинную углеводородную фитильную цепь (8). Измерение содержания хлорофилла используется для определения физиологического состояния растений, оценки воздействия стрессовых факторов и прогнозирования продуктивности для различных сельскохозяйственных культур. Выявлено, что содержание хлорофилла положительно соотносилось с урожайностью и стрессоустойчивостью (8-10). Кроме того, не только общее содержание хлорофиллов, но и соотношение хлорофиллов *a* и *b* может изменяться в зависимости от вида растений, условий роста и развития, обеспечивая наилучшую адаптацию к окружающей световой среде (11). Установлено, что в процессе адаптации растений к засухе и жаре соотношение хлорофилла *a* и *b* уменьшается (12). Определение этого соотношения в линиях кукурузы может послужить инструментом для изучения механизмов их адаптации к экстремальным условиям, а также для разработки стратегий повышения урожайности и устойчивости к засухе.

Помимо значимости для растений, совокупные результаты исследований *in vitro* и *in vivo* с использованием нативных хлорофиллов указывают

на их потенциальную пользу для здоровья млекопитающих (13-15). При этом не только сам хлорофилл, но и его производные — фитол и фитановая кислота положительно влияют на здоровье, увеличивая мышечную массу, улучшая жировой обмен и развитие животных (16-18). Так, у коров, которых в течение 3 мес кормили травяным силосом, значительно (до 0,69 % от массы жира) увеличивалось содержание фитановой кислоты (19). Количество фитановой кислоты напрямую зависит от содержания фитолов и, соответственно, хлорофилла в кормах (15). В связи с этим обеспечение жвачных животных кормами с более высоким содержанием хлорофилла положительно повлияет на их здоровье и качество продукции.

В представленной работе среди селекционных линий кукурузы из коллекции Института сельского хозяйства — филиала ФГБНУ ФНЦ Кабардино-Балкарского научного центра РАН (ИСХ КБНЦ РАН) впервые выявлены восемь образцов с высоким накоплением хлорофиллов в листьях, которые могут быть рекомендованы в качестве материала для селекции гибридов на высокую продуктивность и улучшенные кормовые характеристики, а также показана взаимосвязь между количеством общих хлорофиллов и экспрессией генов фотосистем, в частности транскрипцией генов *psaA* и *psbA*.

Целью нашего исследования стала оценка содержания хлорофилла а и хлорофилла b в перспективных селекционных линиях кукурузы для выделения образцов кормовой направленности с повышенным содержанием хлорофиллов, а также определение возможных корреляций между содержанием хлорофиллов и экспрессией генов *psaA* и *psbA*.

Методика. Для анализа отобрали 150 селекционных линий кукурузы из коллекции ИСХ КБНЦ РАН, используемых для получения сортов и гибридов зернового и универсального направлений. Растения выращивали на опытных участках ИСХ КБНЦ РАН (43,628604° N, 44,135084° W) в 2023 году.

Содержание хлорофиллов а и b в листовой ткани определяли с использованием реактива Фолча (20) (спектрофотометр УФ-1100, «Эковью», Россия). Для этого через 5-6 сут после опыления отбирали около полудня листья пятого яруса у второго растения в ряду, чтобы свести к минимуму потенциальное влияние интенсивности света на функциональную активность хлоропластов. Для каждой линии были отобраны листья с трех растений (с одного растения из каждого из трех рядов делянки, всего три биологические повторности). Листовые диски вырезали с середины листа, избегая средних жилок, гомогенизировали в жидком азоте и замораживали при –80 °С для последующего анализа методом Фолча. Все измерения проводились в трех аналитических повторностях.

Экспрессию *psaA* и *psbA* определяли в тех же гомогенизированных в жидком азоте тканях, для которых измеряли содержание хлорофиллов. Из 50 мг листовой ткани выделяли суммарную РНК (RNeasy Plant Mini Kit, «QIAGEN N.V.», Германия), очищали от примесей ДНК (RNase-free DNase set, «QIAGEN N.V.», Германия). Качество мРНК проверяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле, количество измеряли флуориметрически (Qubit® Fluorometer, «Thermo Fisher Scientific», США). Полученные препараты мРНК использовали для синтеза кДНК с праймером oligo-dT (GoScript Reverse Transcription System, «Promega», США) согласно рекомендации производителя.

Экспрессию генов оценивали с помощью количественной ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР) в двух биологических и трех аналитических повторностях на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System («Bio-Rad Laboratories», США). В реакции использовали 3,0 нг кДНК и смесь для РВ-ПЦР в присутствии SYBR Green (НПК «Синтол», Россия), а также прай-

меры psbA-F 5'-CCACCCAGCGTCAAGAA-3', psbA-R 5'-TGAATCACCACTTAGCGGGATT-3', psbA-F 5'-GCTGCCCCCTCCAGTAGATATTG-3', psbA-R 5'-AACAGATGCAGCTTCCCAAATT-3'. Условия реакции были следующими: 5 мин при 95 °С (денатурация); 15 с при 95 °С (денатурация), 40 с при 60 °С (отжиг/синтез цепи) (40 циклов). Для нормализации данных РВ-ПЦР использовали референсный ген *ZmUbi* (NM_001329666.1; праймеры ZmUBI-rtF: 5'-ATCGTGGTTGTGGCTTCGTTG-3', ZmUBI-rtR: 5'-GCTGCAGAAGAGTTTTGGGTACA-3').

Результаты биохимических исследований обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel 2013. Для содержания общих хлорофиллов, хлорофилла а и хлорофилла b рассчитывали средние по формулам для двухфазной экстракции Фолча и стандартные отклонения (\pm SD) (20). Статистический анализ включал построение точечной диаграммы, выявление линейной зависимости методом наименьших квадратов и определение величины коэффициента детерминации R^2 с применением встроенных функций регрессионного анализа и инструментов визуализации Microsoft Excel. Данные анализа экспрессии генов статистически обрабатывали с помощью программы Graph Pad Prism v. 9 (<https://www.graphpad.com>, США).

Результаты. У 150 инбредных линий кукурузы из коллекции ИСХ КБНЦ РАН суммарное содержание хлорофиллов в листьях составляло от 127,25 до 871,99 мкг/г.

По количеству хлорофиллов в листьях линии значительно различались, и их можно было объединить в три группы: с высоким (> 400 мкг/г) (21 образец), средним (200–400 мкг/г) (91 образец) и низким (< 200 мкг/г) (38 образцов) содержанием (рис. 1). При этом выявленное максимальное количество хлорофиллов (образец 726; 871,99 мкг/г) и их минимальное количество (образец 804; 127,25 мкг/г) значительно (в 6,85 раза) различалось.

Полутора-двукратный разброс в содержании хлорофиллов отмечали у многих сельскохозяйственных растений, но при этом в большинстве случаев число анализируемых образцов не превышало двадцати (9, 10). Так, при анализе 10 линий кукурузы содержание общих хлорофиллов в листьях различалось в 2,1 раза (10). В нашем случае, если сравнивать суммарное количество хлорофиллов в наиболее представительной группе с их средним содержанием (91 образец), то разница между минимальным и максимальным показателем также была не более чем 1,8-кратной.

Практический интерес для селекции силосной кукурузы представляют идентифицированные нами линии, в которых содержание общего хлорофилла значительно превышало средние значения.

Помимо общего хлорофилла, у 150 образцов кукурузы мы сравнили содержание хлорофилла а и хлорофилла b, а также количественное соотношение этих двух пигментов. Содержание хлорофилла а в листьях у анализируемых образцов колебалось от 88,95 до 608,95 мкг/г, хлорофилла b — от 38,3 до 270,36 мкг/г (см. рис. 1).

Эти значения в целом совпадали с ранее полученными для кукурузы (21, 22). Как и ожидалось, средние концентрации хлорофилла а были выше в сравнение с хлорофиллом b, что соответствовало результатам, полученным в других работах (23, 24), и согласуется с известной ролью этих пигментов в процессе фотосинтеза (25).

Интерес представляют не только значения концентрации пигментов, но и их относительное содержание. Соотношение хлорофилла а и хлорофилла b служит показателем состояния фотосистем и светособирающих комплексов, а также адаптивности растения (12).

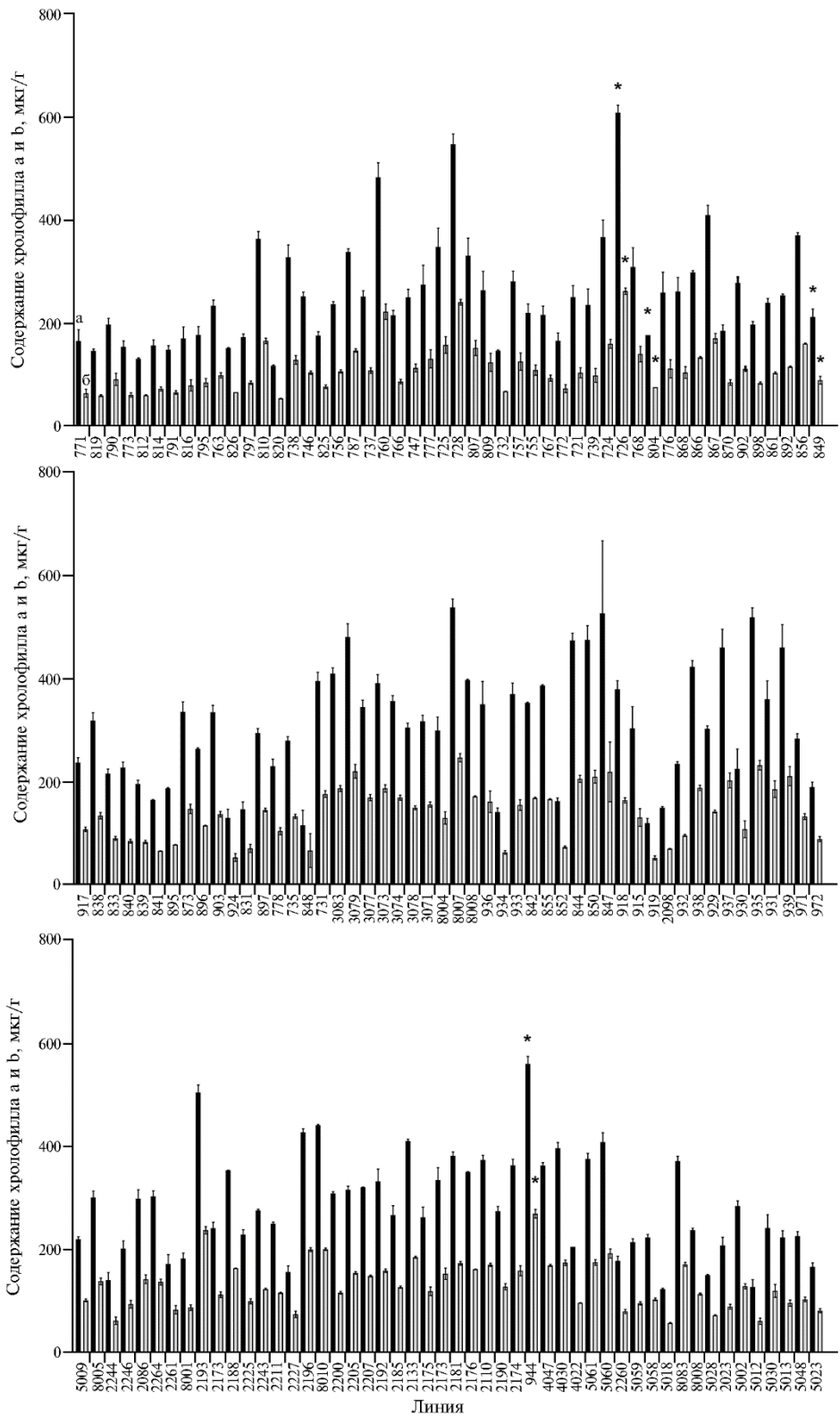


Рис. 1. Содержание хлорофиллов а и b у 150 линий кукурузы (*Zea mays* L.) из коллекции ИСХ КБНЦ РАН. Звездочкой отмечены линии, отобранные для анализа генной экспрессии ($n = 3$, $N = 3$, $M \pm SD$; опытное поле ИСХ КБНЦ РАН, с. Опытное, Терский р-н, Кабардино-Балкарская Республика, 2023 год).

В нашем исследовании величина соотношения хлорофилл а/хлорофилл b у разных линий кукурузы варьировала от 1,72 до 2,65. Результаты в целом совпали с ранее полученными данными, где было показано, что значения этого показателя для анализируемых образцов кукурузы составили в среднем 2,7 (21, 25). Однако в работе Н.К. Lichtenthaler с соавт. (26) приведены бóльшие значения: у кормовой кукурузы соотношение хлорофиллов составляло в среднем 3,9, у сахарной — 4,5. Такое различие может иметь как генетическую основу, так и быть результатом разных условий произрастания и разных фаз развития исследуемых растений.

Точечная диаграмма, созданная на основе данных по концентрациям хлорофиллов а и b, позволяет визуализировать связь между этими важными пигментами (рис. 2). Линия тренда с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,9781$ подчеркивала значительную корреляцию между содержанием хлорофиллов а и b и показала, что лишь незначительная доля вариаций концентрации одного пигмента не обусловлена изменениями концентрации другого. Данные нашего исследования подтверждают тот факт, что увеличение аккумуляции хлорофилла а чаще всего сопровождается увеличением количества хлорофилла b, и это отражает их координированное участие в фотосинтетических процессах (27).

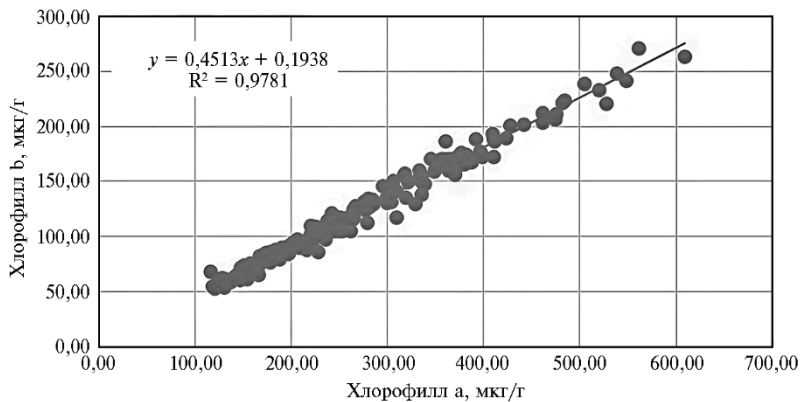


Рис. 2. Взаимосвязь между содержанием хлорофилла а и хлорофилла b в листьях у 150 линий кукурузы (*Zea mays* L.) из коллекции ИСХ КБНЦ РАН (опытное поле ИСХ КБНЦ РАН, с. Опытное, Терский р-н, Кабардино-Балкарская Республика, 2023 год).

Сравнивая полученные результаты с данными исследований по другим видам растений, можно отметить, что соотношение хлорофиллов а и b у кукурузы в нашем эксперименте (1,72-2,65, среднее 2,22) находилось в пределах значений, характерных для большинства злаковых сельскохозяйственных культур. Например, в случае мягкой пшеницы это соотношение составляло 2,5, у ячменя — 2,19, у риса — 2,13 (28-30).

Чтобы определить, связаны ли детектируемые нами различия в содержании хлорофилла в листьях линий кукурузы с различиями в транскрипции генов фотосинтеза, методом ПЦР в реальном времени (РВ-ПЦР) был проведен анализ экспрессии генов *psaA* и *psbA*, кодирующих ключевые белки реакционных центров фотосистем (31). Для анализа отобрали две линии с высоким содержанием общих хлорофиллов в листьях (линии 944 и 726) и две — с низким (линии 804 и 849) (рис. 3). Общее содержание хлорофиллов у линий 726 (871,99 мкг/г) и 944 (831,31 мкг/г) было одним из наиболее высоких в анализируемой выборке и в 5,4 раза превышало показатель у линий 804 (127,25 мкг/г) и 849 (184,14 мкг/г).

Установлено, что содержание хлорофиллов коррелировало с экспрессией обоих генов фотосистем. При этом у линий 726 и 944 уровень

транскрипции гена *psaA* превышал аналогичный показатель у линий 804 и 849 в 5,8 раза, а гена *psbA* — в 4,6 раза (см. рис. 3). Следует отметить, что экспрессия гена *psaA* в листьях всех линий кукурузы была в среднем в 1,5 раза выше, чем *psbA*. Такая же разница в экспрессии этих двух генов показана ранее для листьев горчицы (32).

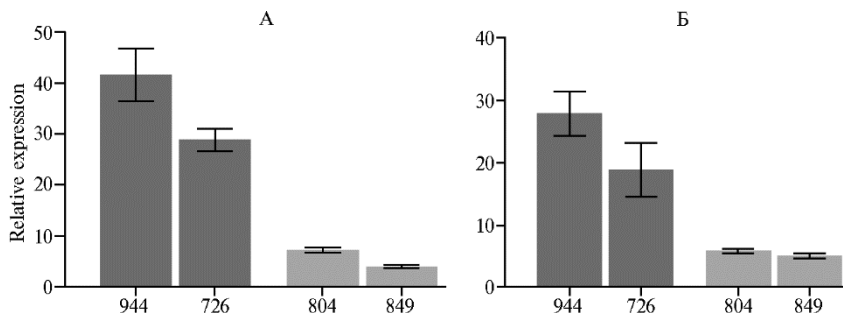


Рис. 3. Результаты РВ-ПЦР анализа экспрессии генов *psaA* (А) и *psbA* (Б) в листьях образцов кукурузы (*Zea mays* L.) из коллекции ИСХ КБНЦ РАН, контрастных по содержанию хлорофиллов а и b (линии 944, 726 — с высоким содержанием, линии 804, 849 — с низким содержанием) (референсный ген — *ZmUbi*; $n = 2$, $N = 3$, $M \pm SD$; растения выращены на опытном поле ИСХ КБНЦ РАН, с. Опытное, Терский р-н, Кабардино-Балкарская Республика, 2023 год).

Таким образом, по результатам проведенного нами анализа у 150 сортов и инбредных линий кукурузы из коллекции ИСХ КБНЦ РАН выявлена значительная вариабельность в содержании хлорофиллов а и b. На основании полученных данных выделены три группы линий кукурузы с высоким (> 400 мкг/г), средним (200-400 мкг/г) и низким (< 200 мкг/г) содержанием хлорофиллов в листьях. Показано, что один из основных факторов, приводящих к повышенному синтезу хлорофиллов у линий кукурузы, — увеличение транскрипции двух ключевых генов фотосинтеза *psaA* и *psbA*. Выделены линии (726, 728, 760, 847, 935, 944, 2193, 8007) с высоким содержанием хлорофиллов, которые могут послужить основой для селекции гибридов кукурузы с высокой продуктивностью и улучшенными кормовыми характеристиками.

Институт сельского хозяйства — филиал ФГБНУ ФНЦ Кабардино-Балкарский научный центр РАН,
360004 Россия, Кабардино-Балкарская Республика,
г. Нальчик, ул. Кирова, 224,
e-mail: khavpacheva.dzhenet@mail.ru ✉, agyaurgiyev@inbox.ru,
gazheva79@mail.ru, aliy-beck@yandex.ru, sarbashasi59@mail.ru

Поступила в редакцию 15 апреля 2024 года

Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2024, V. 59, № 5, pp. 973-982

EVALUATION OF CORN (*Zea mays* L.) LINES PROMISING FOR BREEDING FORAGE HYBRIDS BY CHLOROPHYLL CONTENT AND EXPRESSION OF *psaA* AND *psbA* GENES

D.Kh. Arkhestova ✉, A.Kh. Gyaurgiev, R.A. Gazheva, A.D. Khaudov, A.I. Sarbasheva

Institute of Agriculture, Federal Kabardino-Balkarian Scientific Center RAS, 224, ul. Kirova, Nalchik, Kabardino-Balkarian Republic, 360004 Russia, e-mail: khavpacheva.dzhenet@mail.ru (✉ corresponding author), agyaurgiyev@inbox.ru, gazheva79@mail.ru, aliy-beck@yandex.ru, sarbashasi59@mail.ru

ORCID:

Arkhestova D.Kh. orcid.org/0000-0003-1239-3641

Khaudov A.D. orcid.org/0000-0002-5187-3229

Gyaurgiev A.Kh. orcid.org/0000-0001-8619-4130

Sarbasheva A.I. orcid.org/0000-0003-4708-1293

Gazheva R.A. orcid.org/0000-0002-6822-687X

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Carried out within the framework of the Federal project "Agrarian Science as a Step into the Future Development of the Agro-Industrial Complex", direction 4.1.1.

Abstract

Corn (*Zea mays* L.) is a crucial fodder crop that holds one of the leading positions among feed plants. Chlorophylls a and b, the primary photosynthetic pigments, play a vital role in determining the physiological state of plants, assessing the impact of stress factors, and predicting productivity. It is known that chlorophylls and their derivatives, phytol and phytanic acid, are extremely important in mammalian nutrition due to their positive effects on metabolic dysfunctions. The content of phytol and phytanic acid directly depends on the chlorophyll content in feed. In this regard, providing ruminants with feeds high in chlorophyll content will improve the quality of obtained animal products. In this study, samples with high chlorophyll content in leaves were identified for the first time, and a correlation between the accumulation of total chlorophylls and expression levels of photosystem genes, including transcription of *psaA* and *psbA* genes, was demonstrated in maize breeding lines from the collection of the Institute of Agriculture of the Institute of Agriculture KBRC RAS. Our aim was to evaluate the chlorophyll a and chlorophyll b contents in promising corn breeding lines from the collection of the Institute of Agriculture — a branch of the Federal Scientific Center of Kabardino-Balkarian Scientific Center RAS (Institute of Agriculture KBSC RAS) to identify fodder-oriented lines with increased chlorophyll content for further use in breeding, as well as to determine possible correlations between chlorophyll content and expression of *psaA* and *psbA* genes. For the analysis, 150 breeding lines of maize were selected from the collection of Institute of Agriculture KBSC RAS, which are used to produce varieties and hybrids for grain and universal purposes. The plants were grown in experimental plots of the Institute of Agriculture of the KBRC RAS in 2023. The determination of chlorophyll a and b content in leaves was conducted using Folch reagent. For this purpose, 5–6 days after pollination, at noon, leaves from the fifth tier of the second plant in the row were collected. Leaf discs were cut from the middle of the leaf, avoiding midribs, homogenized in liquid nitrogen, and frozen at -80°C . The expression of *psaA* and *psbA* genes was determined in the same tissues homogenized in liquid nitrogen, for which chlorophyll content was measured, using quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Statistical analysis was performed using Microsoft Excel 2013 and GraphPad Prism v.9 software. The results revealed significant differences in chlorophyll content among the analyzed samples. Based on total chlorophyll content, corn lines were divided into three groups, with high ($> 400 \mu\text{g/g}$, 21 samples), medium ($200\text{--}400 \mu\text{g/g}$, 91 samples), and low ($< 200 \mu\text{g/g}$, 38 samples) content. The maximum amount of chlorophyll a was detected in line 726 ($608.95 \mu\text{g/g}$), while the minimum was in line 804 ($88.95 \mu\text{g/g}$), with a 6.85-fold difference. The ratio of chlorophyll a to chlorophyll b in different lines ranged from 1.72 to 2.65, which is consistent with previously obtained data for maize. The expression of photosystem genes *psaA* and *psbA* positively correlated with chlorophyll content. For instance, in lines 726 and 944 (maximum chlorophyll content), *psaA* gene transcription was 5.8 times higher, and *psbA* was 4.6 times higher compared to lines 804 and 849 (minimum chlorophyll content). The obtained results demonstrate significant variability in chlorophyll content and photosystem gene expression among different maize lines. The identified lines with high chlorophyll content (726, 728, 760, 847, 935, 944, 2193, and 8007) can serve as a basis for further breeding aimed at obtaining high-yielding maize hybrids with improved forage characteristics.

Keywords: *Zea mays* L., corn, chlorophyll a, chlorophyll b, photosynthesis, expression analysis, gene expression, *psaA*, *psbA*.

REFERENCES

1. Karnatam K.S., Mythri B., Nisa W.U., Sharma H., Meena T.K., Rana P., Vikal Y., Gowda M., Dhillon B.S., Sandhu S. Silage maize as a potent candidate for sustainable animal husbandry development—perspectives and strategies for genetic enhancement. *Frontiers in Genetics*, 2023, 14: 1150132 (doi: 10.3389/fgene.2023.1150132).
2. Shomakhov B.R., Bzhinaev F.Kh., Gyaurgiev A.Kh., Mataeva O.Kh. *Izvestiya KBNTs RAN*, 2022, 109(5): 149–157 (doi: 10.35330/1991-6639-2022-5-109-149-157) (in Russ.).
3. Fomenko P.A., Bogatyreva E.V. *Sel'skokhozyaystvennyy zhurnal*, 2023, 16(2): 55–65 (doi: 10.48612/FARC/2687-1254/006.2.16.2023) (in Russ.).
4. Sun H., Li M., Zhang Y., Zheng L., Zhang Y. Correlation between chlorophyll content and vegetation index of maize plants under different fertilizer treatments with multi-spectral imaging. *Sensor Letters*, 2013, 11(6–7): 1128–1133 (doi: 10.1166/sl.2013.2888).
5. Theeuwens T., Logie L., Harbinson J., Aarts M. Genetics as a key to improving crop photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(10): 3122–3137 (doi: 10.1093/jxb/erac076).
6. Ozakca D.U. Effect of abiotic stress on photosystem i-related gene transcription in photosynthetic organisms. In: *Photosynthesis*. Z. Dubinsky (ed.). InTech, 2013 (doi: 10.5772/55350).
7. Sugiura M., Boussac A. Some Photosystem II properties depending on the D1 protein variants in *Thermosynechococcus elongatus*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Bioenergetics*, 2014,

- 1837(9): 1427-1434 (doi: 10.1016/j.bbabi.2013.12.011).
8. Li M., Lv R., Zhou H., Zi X. Dynamics and correlations of chlorophyll and phytol content with silage bacterial of different growth heights *Pennisetum sinense*. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 996970 (doi: 10.3389/fpls.2022.996970).
 9. Sid'ko A.F., Botvich I.Y., Pisman T.I., Shevyrnogov A.P. Estimation of chlorophyll content and yield of wheat crops from reflectance spectra obtained by ground-based remote measurements. *Field Crops Research*, 2017, 207: 24-29 (doi: 10.1016/j.fcr.2016.10.023).
 10. Hayatnezhad M., Gholamin R., Jamaati S., Zabihi-E-Mahmoodabad R. The leaf chlorophyll content and stress resistance relationship considering in corn cultivars (*Zea mays*). *Advances in Environmental Biology*, 2011, 5: 118-122.
 11. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 1987, 148: 350-382 (doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1).
 12. Luo Q., Xie H., Chen Z., Ma Y., Yang H., Yang B., Ma Y. Morphology, photosynthetic physiology and biochemistry of nine herbaceous plants under water stress. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1147208 (doi: 10.3389/fpls.2023.1147208).
 13. Li Y., Cui Y., Hu, X., Liao X., Zhang, Y. Chlorophyll supplementation in early life prevents diet-induced obesity and modulates gut microbiota in mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2019, 63(21): e1801219 (doi: 10.1002/mnfr.201801219).
 14. Carvalho A.M.S., Heimfarth L., Pereira E.W.M., Oliveira F.S., Menezes I.R.A., Coutinho H.D.M., Picot L., Antonioli A.R., Quintans J.S.S., Quintans-Júnior L.J. Phytol, a chlorophyll component, produces antihyperalgesic, anti-inflammatory, and antiarthritic effects: possible NFκB pathway involvement and reduced levels of the proinflammatory cytokines TNF-α and IL-6. *Journal of Natural Products*, 2020, 83(4): 1107-1117 (doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b01116).
 15. Lv R., Elsabagh M., Obitsu T., Sugino T., Kurokawa Y. Effect of phytol in forage on phytanic acid content in cow's milk. *Animal Bioscience*, 2021, 34(10): 1616-1622 (doi: 10.5713/ab.21.0086).
 16. Moiseeva E.A., Kravchenko I.V., Shepeleva L.F., Bordey R.Kh. Accumulation of photosynthetic pigments and secondary metabolites in leaves of galega (*Galega orientalis* Lam.) cv. Gale depending on stand age and agrotechnologies during introduction in the Middle taiga of Western Siberia. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2022, 57(1): 44-65 (doi: 10.15389/agrobiology.2022.1.44rus).
 17. Bobe G., Zhang Z., Kopp R., Garzotto M., Shannon J., Takata Y. Phytol and its metabolites phytanic and pristanic acids for risk of cancer: current evidence and future directions. *European Journal of Cancer Prevention*, 2020, 29(2): 191-200 (doi: 10.1097/CEJ.0000000000000534).
 18. Ding L.L., Matsumura M., Obitsu T., Sugino T. Phytol supplementation alters plasma concentrations of formate, amino acids, and lipid metabolites in sheep. *Animal*, 2021, 15(3): 100174 (doi: 10.1016/j.animal.2021.100174).
 19. Lough A.K. The phytanic acid content of the lipids of bovine tissues and milk. *Lipids*, 1977, 12(1): 115-119 (doi: 10.1007/bf02532982).
 20. Efremov G.I., Slugina M.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Differential regulation of phytoene synthase PSY1 during fruit carotenogenesis in cultivated and wild tomato species (*Solanum section Lycopersicon*). *Plants*, 2020, 9(9): 1169 (doi: 10.3390/plants9091169).
 21. Gul H., Anjum L., Arif M., Shah M. Effects of exogenous application of putrescine on different biochemical parameters of *Zea mays* L. under salinity stress. *FUUAST Journal of Biology*, 2018, 8(1): 65-72.
 22. Yan Y., Hou P., Duan F., Niu L., Dai T., Wang K., Zhao M., Li S., Zhou W. Improving photosynthesis to increase grain yield potential: an analysis of maize hybrids released in different years in China. *Photosynthesis Research*, 2021, 150(1-3): 295-311 (doi: 10.1007/s11120-021-00847-x).
 23. Daughtry C.S.T., Walthall C.L., Kim M.S., Brown de Colstoun E., McMurtrey E. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 2000, 74(2): 229-239 (doi: 10.1016/S0034-4257(00)00113-9).
 24. Li G., Aubrey D., Sun H. Predictive capability of a leaf optical meter for determining leaf pigment status during senescence. *Photosynthetica*, 2017, 55(3): 543-552 (doi: 10.1007/s11099-016-0678-8).
 25. Yang H., Ming B., Nie C., Xue B., Xin J., Lu X., Xue J., Hou, P., Xie R., Wang K., Li S. Maize canopy and leaf chlorophyll content assessment from leaf spectral reflectance: estimation and uncertainty analysis across growth stages and vertical distribution. *Remote Sensing*, 2022, 14(9): 2115 (doi: 10.3390/rs14092115).
 26. 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*, 2022, 60(special issue 2022): 3-9 (doi: 10.32615/ps.2021.041).
 27. Gitelson A.A., Gritz Y., Merzlyak M.N. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160(3): 271-82 (doi: 10.1078/0176-1617-00887).
 28. Salitxay T., Phouthaxay P., Pang Y.G., Yeong Y.C., Adhikari P.B., Park C.H. Effects of elicitors on seedling growth, total polyphenol and chlorophyll content and antioxidant activity of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Korean Journal of Crop Science*, 2016, 61(1): 33-40 (doi: 10.7740/KJCS.2016.61.1.033).

29. Kaviya M., Balamuralikrishnan B., Sangeetha T., Senthilkumar N., Malaisamy A., Sivasamy M., Poorni L., Pushparaj K., Arun M., Anand A.V. Evaluation of phytoconstituents of *Triticum aestivum* grass extracts on nutritional attributes, antioxidant, and antimicrobial activities against food pathogens with molecular in silico investigation. *Food Frontiers*, 2023, 4(2): 831-848 (doi: 10.1002/fft2.233).
30. Veronica N., Venkata Ramana Rao P. Impact of low light stress on physiological characters, yield and yield attributes of rice (*Oryza sativa* L.). *Agricultural Science Digest*, 2023, 44(6): 5788 (doi: 10.18805/ag.D-5788).
31. Ibrahim I.M., McKenzie S.D., Chung J., Aryal U.K., Leon-Salas W.D., Puthiyaveetil S. Photosystem stoichiometry adjustment is a photoreceptor-mediated process in *Arabidopsis*. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 10982 (doi: 10.1038/s41598-022-14967-4).
32. Steiner S., Dietze L., Schröter Y., Fey V., Wagner R., Pfannschmidt T. The role of phosphorylation in redox regulation of photosynthesis genes *psaA* and *psbA* during photosynthetic acclimation of mustard. *Molecular Plant*, 2009, 2(3): 416-429 (doi: 10.1093/mp/ssp007).