

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В.ЛОМОНОСОВА

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

*На правах рукописи*

**КАЛМАЦКАЯ ОЛЕСЯ АЛЕКСЕЕВНА**

**ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ:  
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ОСВЕЩЕНИЯ И ОБРАБОТКИ  
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ**

Специальность 03.01.02 – Биофизика

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2017

Работа выполнена на кафедре общей физики физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

Научный руководитель: **Караваяев Владимир Александрович**  
доктор физико-математических наук, профессор,  
профессор Физического факультета МГУ имени  
М.В.Ломоносова

Официальные оппоненты: **Иванов Борис Николаевич**  
доктор биологических наук, заведующий  
лабораторией ИФПБ РАН

**Пащенко Владимир Захарович**  
доктор физико-математических наук, профессор,  
профессор Биологического факультета МГУ  
имени М.В.Ломоносова

**Фадеев Виктор Владимирович**  
доктор физико-математических наук, профессор,  
профессор Физического факультета МГУ имени  
М.В.Ломоносова

Защита диссертации состоится «16» ноября 2017 года в 15:30 на заседании диссертационного совета МГУ.01.04 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2, физический факультет МГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В.Ломоносова (Ломоносовский просп., д.27) и на сайте ИАС «ИСТИНА» [http://istina.msu.ru/dissertation\\_councils/councils/28357490](http://istina.msu.ru/dissertation_councils/councils/28357490)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 года.

Ученый секретарь диссертационного совета МГУ.01.04,  
кандидат технических наук

Сидорова А.Э.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования.

Растения являются компонентами биосферы, которые выполняют важнейшую роль в синтезе органических веществ, используемых живыми организмами. Результатом их жизнедеятельности является также наличие кислорода в атмосфере в концентрации, достаточной для существования аэробных организмов. Растения выполняют огромную геохимическую работу, обусловленную, прежде всего, их способом минерального питания и водообмена. Особую роль в жизни растительного организма играют фотосинтетические реакции, происходящие в хлоропластах. В результате этих реакций устанавливается система прямых и обратных связей, имеющих существенное значение в поддержании клетки как целостной функциональной единицы, гибко приспособляющейся к действию различных эндогенных и экзогенных факторов.

В настоящее время в основном установлены состав и структура фотосинтетического аппарата растений, исследованы механизмы отдельных реакций фотосинтеза, начиная от поглощения света, переноса энергии возбуждения к реакционным центрам, электронного транспорта, синтеза АТФ и кончая биохимическими реакциями цикла Кальвина – Бенсона. Вместе с тем, вопрос о регуляторных механизмах, обеспечивающих оптимальное функционирование фотосинтетического аппарата, его адаптацию к изменяющимся внешним условиям, устойчивость к многочисленным стрессовым факторам, в значительной степени остается еще открытым. В наибольшей степени эти регуляторные механизмы проявляются в индукционных эффектах, наблюдаемых, например, при включении освещения после периода темноты.

В последние годы для изучения структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата растений активно используются флуоресцентные методы. Среди них – метод, основанный на регистрации спектров флуоресценции листьев растений, а также метод импульсной флуориметрии, получивший широкое распространение после начала промышленного производства импульсных флуориметров семейства РАМ (Pulse Amplitude Modulation fluorometer). Вместе с тем, по-прежнему актуальной остается проблема однозначной интерпретации результатов, получаемых этими методами, и установление количественных взаимосвязей между флуоресцентными характеристиками растений, с одной стороны, и функциональной активностью фотосинтетического аппарата, – с другой. Известно, например, что форма спектра флуоресценции зеленого листа отражает содержание в нем хлорофилла. Вместе с тем, соотношение максимумов в длинноволновой области

спектра существенно зависит от множества других факторов, влияющих на общее физиологическое состояние растения.

В связи с этим представляет интерес совместное использование обоих этих методов (спектров флуоресценции и импульсной флуориметрии) для изучения фотосинтезирующих объектов, находящихся в одних и тех же, строго контролируемых экспериментальных условиях. Перспективным также, с точки зрения интерпретации результатов, является изучение флуоресцентных характеристик растений, обработанных веществами с известным избирательным действием на фотосинтез.

В данной работе указанные выше флуоресцентные методы были использованы для решения ряда задач, каждая из которых представляет самостоятельный научный и практический интерес. Эти задачи связаны с изучением особенностей фотосинтетического аппарата растений, находящихся в различных физиологических условиях: после выращивания при пониженной освещенности; в условиях осенней деградации хлорофилла; после продолжительной адаптации к высокой и низкой освещенности; после обработки фторидом натрия, известным своим ингибирующим действием на фермент фосфатазу; после обработки рострегулирующими препаратами, перспективными с точки зрения их использования в сельскохозяйственной практике.

#### **Цель и задачи исследования.**

**Цель работы** заключалась в выяснении взаимосвязи между изменениями флуоресцентных показателей листьев растений, с одной стороны, и структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата, – с другой. В ходе выполнения диссертационной работы были поставлены и решены следующие **задачи**:

1. Изучение спектров флуоресценции листьев растений при разном содержании хлорофилла. В качестве основного объекта исследований были выбраны растения бобов, выращенные при пониженной освещенности. Предполагалось исследовать корреляцию между соотношением максимумов  $F_2/F_1$  флуоресценции хлорофилла в длинноволновой области спектра, с одной стороны, и содержанием хлорофилла в листе, – с другой. Для выяснения того, насколько данная корреляция является универсальной, предполагалось исследовать спектры флуоресценции листьев дуба в условиях осенней деградации хлорофилла и сопоставить их со спектрами, известными из литературы и полученными на других древесных породах.

2. Измерение кинетики флуоресценции, коэффициентов фото- и нефотохимического тушения флуоресценции листьев традесканции, растения которой в течение длительного времени (2–3 месяца) выдерживали в одном случае на сильном (ФАР\* = 875-1000 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>), а в другом – на относительно слабом свете  
(\* ) ФАР – фотосинтетически активная радиация

(ФАР = 50-125 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>). В этих опытах предполагалось выявить адаптационные изменения в структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата, направленные на формирование механизмов его защиты от фотоповреждения.

3. Измерение кинетики флуоресценции хлорофилла *a* в листьях бобов, обработанных фторидом натрия – веществом с известным избирательным действием на фотосинтез. Фторид натрия – ингибитор фосфатазы и, таким образом, должен влиять на распределение энергии возбуждения молекул-пигментов между фотосистемами. Предполагалось выявить закономерности в изменении основных флуоресцентных показателей, регистрируемых методом импульсной флуориметрии, и дать их интерпретацию с точки зрения упомянутого выше воздействия NaF на фотосинтетический аппарат.

4. Изучение флуоресцентных и физиологических характеристик растений (тритикале, лен-долгунец), семена и проростки которых были обработаны рядом рострегулирующих препаратов (совместно с сотрудниками РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева). В этих опытах предполагалось сопоставить изменения флуоресцентных показателей (отношение  $\omega = F_2/F_1$  максимумов в спектре флуоресценции, показатель  $(F_M - F_T)/F_T$ , характеризующий фотосинтетическую активность) растений, обработанных этими препаратами, с изменением физиологических показателей, включая конечную сельскохозяйственную продуктивность.

#### **Научная новизна работы.**

Впервые проведено количественное сопоставление спектров флуоресценции листьев растений (бобы, дуб) и индукционных изменений флуоресценции, регистрируемых методом импульсной флуориметрии, на растениях, находящихся в одних и тех же экспериментальных условиях, в широком диапазоне изменения содержания хлорофилла в листе.

Впервые, с использованием метода импульсной флуориметрии, изучены функциональные изменения в фотосинтетическом аппарате растений (на примере традесканции), связанные с их длительной адаптацией к высокой и низкой освещенности и направленные на формирование механизмов защиты от фотоингибирования.

Впервые, с использованием флуоресцентных методов исследования, установлено стимулирующее действие ряда рострегулирующих препаратов (эпин, циркон, ЭкоФус) на фотосинтетический аппарат растений тритикале и льна-долгунца. Также впервые показано, что увеличение флуоресцентных показателей, связанных с регистрацией спектров флуоресценции и индукционных изменений флуоресценции листа, сопровождается увеличением физиологических показателей (содержание хлорофилла,

высота растений) и в конечном итоге – повышением урожайности данных сельскохозяйственных культур.

### **Методы исследования**

Кинетики флуоресценции измерялись при помощи импульсного флуориметра РАМ-2500 (Walz, Германия), регистрацию спектров флуоресценции проводили с помощью спектрофлуориметра Solar CM2203 (Белоруссия). Для определения содержания хлорофилла использовали ацетоновые вытяжки с последующим измерением спектров поглощения на спектрофотометре АЕ-UV1602.

### **Практическое значение работы**

Разработанная в работе методика последовательной регистрации спектров флуоресценции листьев растений может быть использована при решении широкого круга прикладных задач биофизики фотосинтеза и физиологии растений. В числе таких задач – оценка экологического статуса окружающей природной среды, влияния различных препаратов, используемых в сельскохозяйственной практике, на физиологическое состояние растений и проч.

Установленные закономерности в изменении индукционных кривых флуоресценции и соответствующих показателей импульсной флуориметрии для растений бобов, обработанных фторидом натрия, могут быть использованы при интерпретации результатов, полученных на растениях, находящихся в различных физиологических условиях.

Результаты, полученные в опытах с рострегулирующими препаратами (эпин, циркон, ЭкоФус), имеют практическое значение, связанное с возможностью использования этих препаратов в практике сельского хозяйства. Эти результаты подтверждают перспективность использования спектров флуоресценции зеленого листа и метода медленной индукции флуоресценции для оценки эффективности различных применяемых на практике физиологически активных препаратов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. По мере уменьшения освещенности растений бобов при выращивании степень возрастания флуоресцентного показателя  $\omega = F_{740}/F_{685}$  в индукционном периоде понижается, отражая снижение фотосинтетической активности листа.

2. При длительном (2–3 месяца) выдерживании растений традесканции в условиях высокой освещенности происходит усиление механизмов защиты фотосинтетического аппарата от фотоингибирования, что выражается в увеличении коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции  $qN$ .

3. Влияние фторида натрия на перераспределение энергии возбуждения между фотосистемами и его ингибирующее действие на фотосинтетические реакции

проявляется в уменьшении флуоресцентных показателей  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $F_T$ ,  $(qP)_{\text{стац}}$  и увеличении значений  $(qN)_{\text{стац}}$  у листьев, обработанных NaF.

4. Обработка семян тритикале и проростков льна-долгунца препаратами эпином, цирконом и ЭкоФусом оказывает стимулирующее действие на фотосинтетический аппарат растений, проявляющееся в увеличении флуоресцентных показателей  $\omega = F_{740}/F_{685}$  и  $(F_M - F_T)/F_T$ .

#### **Личный вклад соискателя**

Автором самостоятельно получены представленные в диссертации экспериментальные данные, принято участие в постановке задач исследования, планировании и проведении экспериментов, обработке и анализе экспериментальных данных, а также в формулировке выводов работы.

#### **Апробация работы**

Основные результаты диссертации докладывались на международном молодежном научном форуме «Ломоносов-2011» (Москва, 2011), XI международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Пушино, 2015), XIX международной школе для студентов и молодых ученых по оптике, лазерной физике и биофизике, симпозиум: Оптика и биофотоника (Саратов, 2015), V экологической конференции для молодых ученых (Гейнсвилл, США, 2016), II международной молодежной школе-конференции по экологии и оптике прибрежных вод (Калининград, 2016), международном симпозиуме «Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии» (Москва, 2016).

Основные результаты диссертации изложены в 9 публикациях, в том числе в 5 статьях, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI.

#### **Структура и объем работы.**

Диссертация состоит из введения, 5 глав с изложением литературных данных и собственного экспериментального материала и выводов. Диссертация содержит 97 страниц, включая 32 рисунка и 5 таблиц. Список литературы включает 98 ссылок на работы отечественных и зарубежных авторов.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во **введении** рассмотрена актуальность выбранной темы, сформулированы цели и задачи исследования, показаны научная новизна и практическая значимость работы.

В **первой главе** представлен обзор литературы. Описаны современные представления о структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата. Рассмотрены основные факторы, оказывающие влияние на величину пиков в спектрах флуоресценции зеленого листа. Проведено обсуждение основных механизмов тушения флуоресценции хлорофилла в листьях растений: энергизация

тиллакоидной мембраны, активация регуляторного белка PsbS, активация виолаксантинового цикла, переход фотосинтетического аппарата из состояния 1 в состояние 2 и движение хлоропластов под действием возбуждающего света. Разобраны основы метода импульсной флуориметрии и описаны различные флуоресцентные показатели, характеризующие функциональное состояние фотосинтетического аппарата.

**Вторая глава** посвящена описанию экспериментальных методов и объектов исследования. Основная часть работы была выполнена на проростках бобов *Vicia faba* L. (сорт «Русские черные»). Растения выращивали в пакетах объемом 0,5 л при естественном освещении, в ряде случаев использовалось дополнительное освещение лампой ESB143-65W, расположенной на высоте 30 см от ростков. В экспериментах были использованы листья второго яруса 2-3 недельных проростков.

При обработке бобов фторидом натрия в центральную жилку, не отрывая лист от стебля, медицинским шприцом вводили раствор NaF концентрации  $2 \cdot 10^{-2}$  М, в качестве контроля использовали раствор NaCl той же концентрации. Затем лист оставляли на 3 часа в затенении для естественного выведения излишка влаги.

При измерении флуоресцентных характеристик в процессе осенней деградации хлорофилла использовали листья дуба *Quercus rubra* L., произрастающего на территории Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова. Листья находились на разной стадии деградации хлорофилла и имели окраску от ярко-зеленой до полностью желтой (рис. 1). Измерения проводили в сентябре-октябре 2014-2015 гг.



Рис. 1. Образцы листьев дуба *Quercus rubra* L.

В опытах с листьями традесканции использовали растения вида *Tradescantia fluminensis* L. (рис. 2), адаптированные к двум разным интенсивностям света:  $50-125$  мкЭ  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  (низкой) и  $875-1000$  мкЭ  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  (высокой). В работе использовали листья 4-6 яруса, считая от верхушки.

Для изучения влияния физиологически активных веществ (регуляторов роста) на сельскохозяйственные культуры были использованы растения тритикале и льна-долгунца.



В опытах с тритикале (сорт «Валентин») использовали образцы с полевого опыта, проводившегося проф. Л.Э. Гунар и доц. А.Г. Мякинковым в РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева. Непосредственно перед посевом (август 2012 г.) семена обрабатывали препаратами «Эпин-Экстра» и «Циркон» (фирма Нэст-М) согласно рекомендациям производителя. Нормы расхода препаратов в расчете на 1 т семян составляли: для эпина – 200 мл, для циркона – 2 мл. Для получения рабочего состава указанные количества препаратов разводили в 10 л воды. Флуоресцентные и физиологические показатели растений тритикале определяли в начале июня 2013 г.



Рис. 2. Растения *Tradescantia fluminensis*, адаптированные к различной освещенности: 50-125 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> (слева) и 875-1000 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> (справа).

В опыте с льном-долгунцом *Linum usitatissimum* L. (сорт «Восход») использовали образцы с полевого опыта, проводившегося доц. И.И. Дмитриевской в РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева в 2014-2015 гг.

Спектры флуоресценции листьев растений измеряли на спектрофлуориметре Solar CM2203. Лист освещали в течение 70 с светом с длиной волны  $\lambda_{\text{макс}} = 450$  нм,  $\Delta\lambda = 5$  нм, для стандартизации условий эксперимента, затем выдерживали в темноте в течение 5 мин, после чего включали свет с той же длиной волны и регистрировали серию спектров в диапазоне 630–800 нм в течение 10 минут (в опытах с выращиванием бобов при пониженной освещенности) или 20 минут (во всех остальных экспериментах).

Для количественной оценки формы спектра использовали параметр  $\omega = F_{740} / F_{685}$ , где  $F_{685}$  и  $F_{740}$  – интенсивности флуоресценции на длинах волн 685 и 740 нм соответственно.

Измерения индукционных изменений флуоресценции проводили при помощи импульсного флуориметра РАМ-2500 (Walz, Германия). Лист помещали в темную камеру и адаптировали к темноте в течение 15 минут в случае традесканции или в течение 5 минут во всех остальных случаях. Затем включали слабый измерительный свет ( $\lambda = 630$  нм, ФАР  $\approx 10$  мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>), далее для определения максимального

квантового выхода флуоресценции  $F_v / F_m$  подавали насыщающую вспышку. После короткого периода релаксации (30 с) включали синий действующий свет ( $\lambda = 455$  нм, ФАР  $\approx 150$  мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>), и на его фоне происходила подача кратковременных насыщающих вспышек ( $\Delta t = 0,5$  с,  $\lambda = 630$  нм, ФАР  $\approx 3500$  мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>).

В экспериментах с традесканцией, помимо синего, использовали также

красный действующий свет ( $\lambda = 630$  нм). ФАР, в зависимости от условий эксперимента, составляла 40, 150 или 500 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, насыщающие вспышки имели следующие параметры:  $\Delta t = 0,8$  с, ФАР  $\approx 5000$  мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>.

Используя значения интенсивности флуоресценции, полученные при воздействии измерительного и действующего света, а также насыщающих вспышек, с помощью программного обеспечения прибора автоматически вычислялись такие флуоресцентные параметры, как  $F_v / F_m$ ,  $\Phi_{PSII}$  и  $NPQ$ . Для регистрации темновой релаксации действующий свет выключали, продолжая периодически подавать насыщающие вспышки.

Общее содержание хлорофиллов *a* и *b* определялось спектрофотометрическим методом. Значения оптической плотности на длинах волн 645 и 662 нм использовали для вычисления концентрации хлорофиллов по формулам из работы [1].

**Третья глава** посвящена изучению зависимости формы спектров флуоресценции от содержания хлорофилла в листе.

В **разделе 3.1** представлены результаты опытов с проростками бобов, выращенных при пониженной освещенности. В эксперименте использовали методику последовательной регистрации спектров флуоресценции. Спектры регистрировали после 5 мин темновой адаптации и 10 мин освещения синим светом ( $\lambda = 450$  нм). У

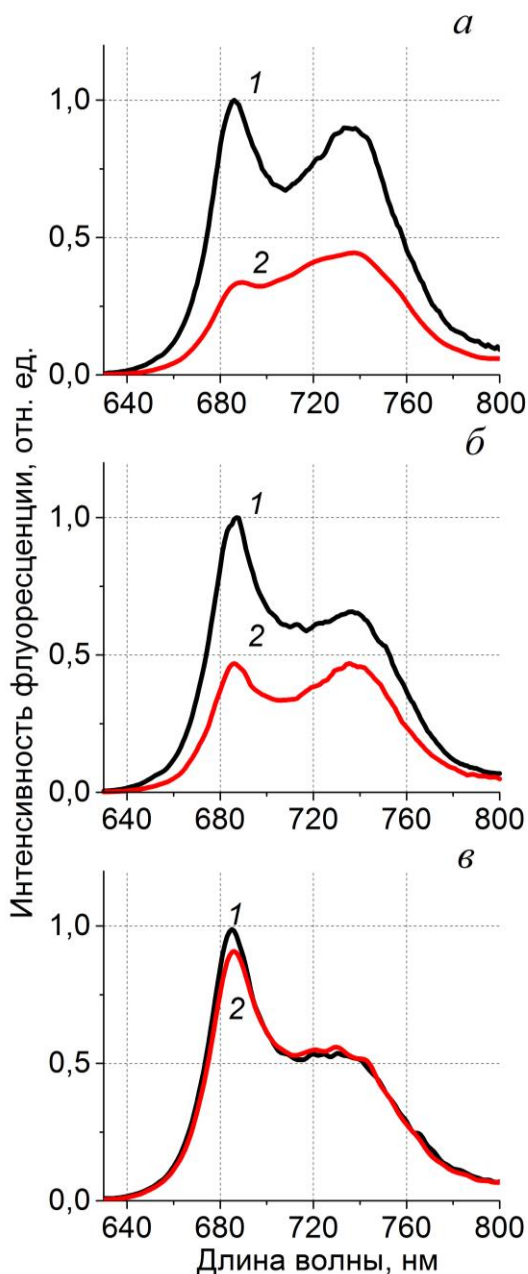


Рис. 3. Характерные спектры флуоресценции листьев бобов, выращенных при разной освещенности: 3000 лк (а); 500÷600 лк (б); 20÷30 лк (в). 1 – после 5 мин темновой адаптации; 2 – после 10 мин освещения.

растений, выращенных при нормальном освещении, интенсивность обоих пиков спектра после 10 мин освещения снижалась вследствие явления индукции флуоресценции (рис. 3, а). При этом показатель  $F_{740}/F_{685}$  увеличивался из-за изменения формы спектра и увеличения вклада длинноволнового пика.

Одной из причин этого эффекта является перераспределение энергии возбуждения между ФС в пользу ФС1 за счет увеличения ее светособирающей антенны при фосфорилировании белков светособирающего комплекса 2 (ССК2) [2]. При понижении интенсивности освещения при выращивании растений относительное тушение флуоресценции уменьшается и при освещенности 20÷30 лк (рис. 3, в) и ниже практически отсутствует. Это, очевидно, связано с постепенным понижением фотосинтетической активности в расчете на хлорофилл по мере затенения растений [3,4], а также, возможно, с уменьшением нефотохимического тушения флуоресценции за счет увеличения размеров светособирающей антенны в расчете на один реакционный центр [5].

Значения  $\omega$  для спектров флуоресценции, полученных после 5 мин темновой адаптации и после 10 мин освещения, постепенно уменьшались по мере затенения растений и снижения содержания хлорофилла (рис. 3). Предполагается, что механизм положительной корреляции между стационарными значениями  $\omega = F_{740} / F_{685}$  и содержанием хлорофилла в листе связан с эффектом перепоглощения более коротковолновой флуоресценции, испущенной хлорофиллом, ассоциированным с ФС2 [2]. В данных условиях эксперимента выявлена линейная зависимость  $\omega_{\text{стац}}$  от содержания хлорофилла в расчете на сырую массу листа (рис. 4):  $\omega_{\text{стац}} = k [\text{Хл}] + \omega_0$ ;  $\omega_0 < 0,05$ ,  $k \approx 1,13 \pm 0,07$  (г сырой массы листа на 1 мг хлорофилла). Коэффициент корреляции составил  $r = 0,986$ ,  $p > 0,95$ .

В разделе 3.2 исследованы флуоресцентные показатели листьев дуба в условиях осенней деградации хлорофилла. По мере понижения содержания хлорофилла наблюдалось возрастание и последующее уменьшение интенсивности флуоресценции на длине волны 685 нм, а также изменение в соотношении пиков, так что отношение  $F_{740} / F_{685}$  постепенно уменьшалось. Установлена линейная зависимость между отношением  $\omega = F_{740}/F_{685}$  и содержанием хлорофилла в широком диапазоне изменений [Хл] (рис. 5); коэффициент корреляции для  $n = 25$  экспериментальных точек составил  $r = 0,96$  ( $p > 0,95$ ). Пересчет наших данных в соответствии с работой [6] свидетельствует о хорошем совпадении результатов, полученных на листьях дуба, с результатами, полученными на других древесных породах [6].

Значения коэффициента  $F_v/F_m$  оставались практически неизменными (около 0,75) вплоть до значительного (в три-пять раз) уменьшения содержания хлорофилла в

листе, что свидетельствует о сохранении высокой фотохимической активности фотосистемы 2. При последующем существенном снижении [Хл] отношение  $F_v/F_m$  резко уменьшалось (рис. 5).

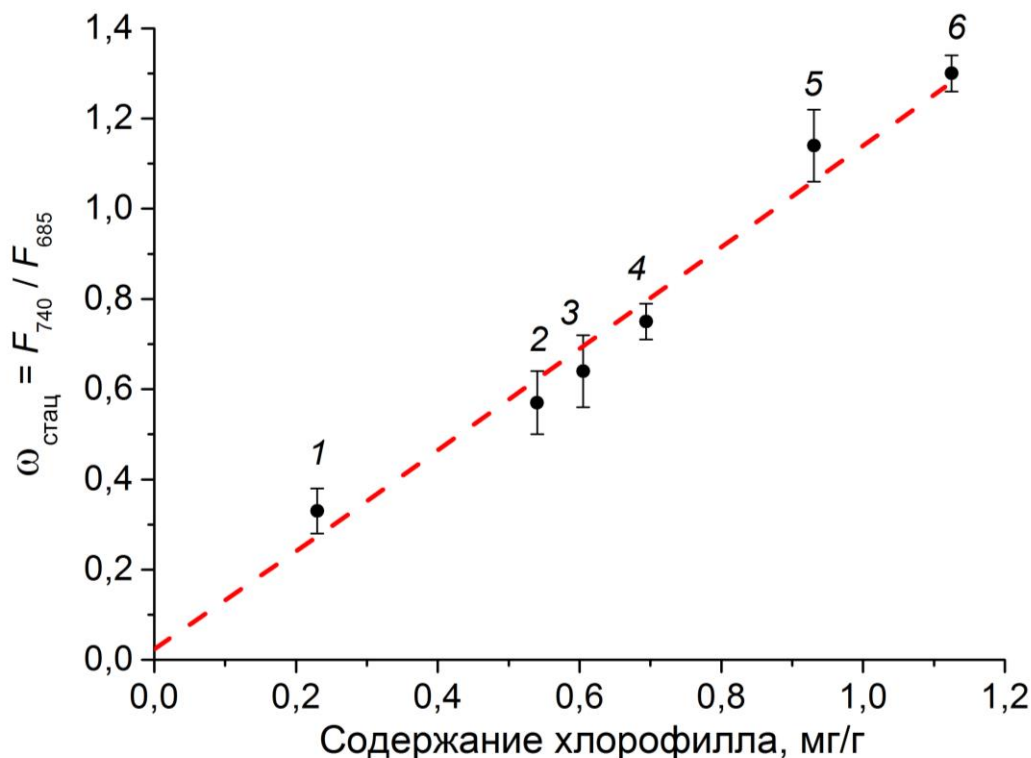


Рис. 4. Стационарные значения показателя  $\omega_{\text{стац}} = F_{740}/F_{685}$  спектров флуоресценции листьев бобов в зависимости от содержания хлорофилла (мг на 1 г сырой массы листа). Интенсивность света при выращивании: 1 – 5÷10 лк; 2 – 20÷30 лк; 3 – 30÷40 лк; 4 – 150÷200 лк; 5 – 500÷600 лк; 6 – 3000 лк.

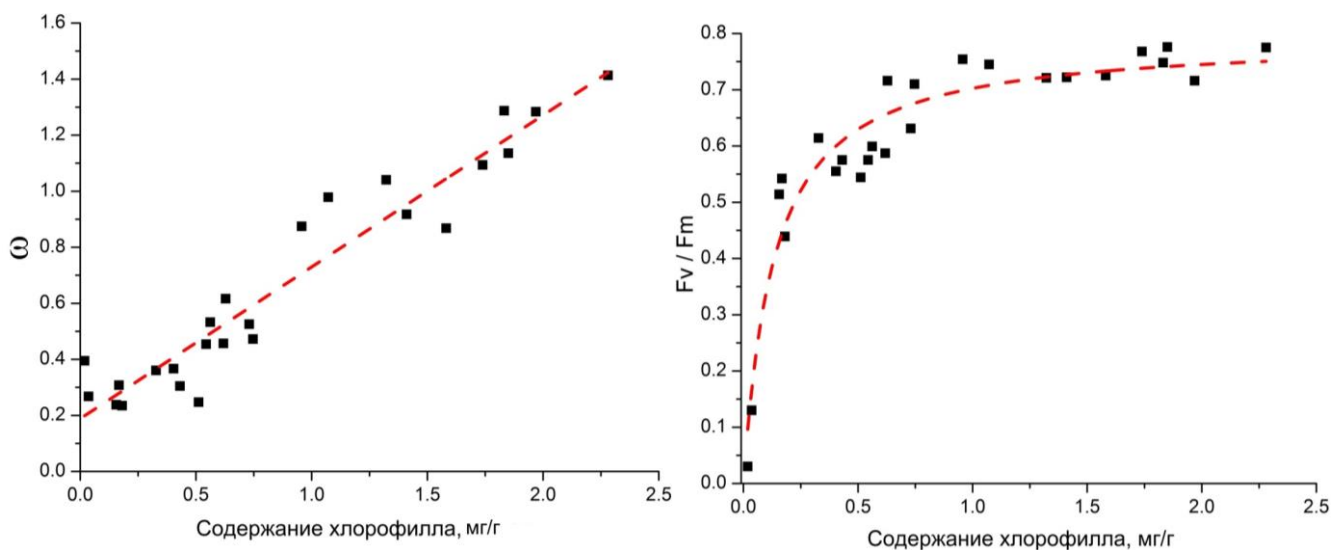


Рис. 5. Зависимость флуоресцентных показателей  $\omega = F_{740}/F_{685}$  и  $F_v/F_m$  от содержания хлорофилла в листьях дуба.

В четвертой главе изучены механизмы защиты фотосинтетического аппарата высших растений от светового стресса. В этих опытах использовали тенелюбивый вид традесканции *Tradescantia fluminensis*, естественными условиями обитания которой являются тропические леса и влажная и затененная местность юго-восточной Бразилии. Растения предварительно культивировали в течение 2-3 месяцев в двух различных по освещенности условиях: при низкой интенсивности света (НИС) ( $50-125 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ) и высокой интенсивности света (ВИС) ( $875-1000 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ).

На рис. 6 представлен протокол измерений коэффициентов импульсной флуориметрии. Время темновой адаптации листа составляло 15 мин, затем в течение 30 мин регистрировали индукцию флуоресценции при освещении образца синим или красным действующим светом (ДС) различной интенсивности (40, 150 или 500  $\text{мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ), после чего выключали ДС и при помощи периодических кратковременных вспышек света насыщающей интенсивности регистрировали темновую релаксацию.

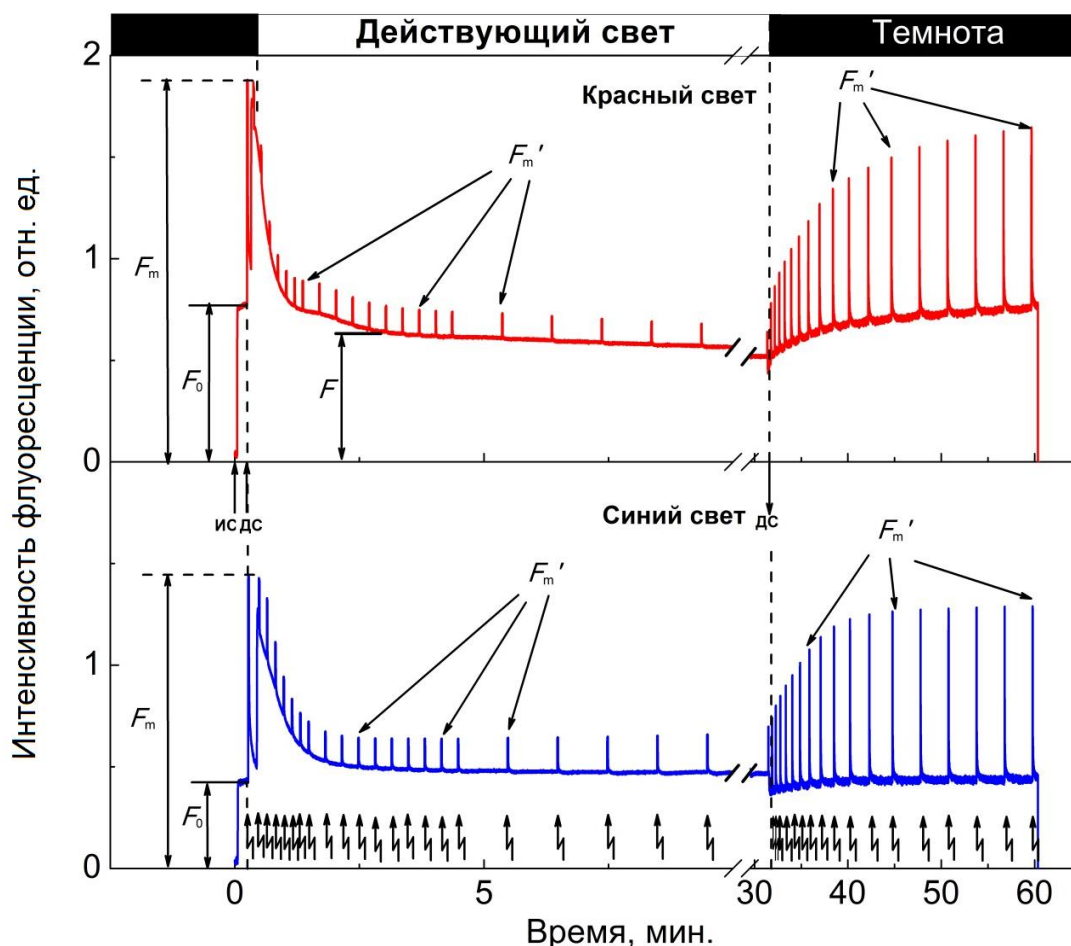


Рис. 6. Протокол измерений флуоресценции листьев *T. fluminensis* с помощью импульсного флуориметра РАМ-2500 при освещении красным (вверху) и синим (внизу) действующим светом ( $40 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ): ИС – измерительный свет, ДС – действующий свет, зигзагообразные стрелки – насыщающие вспышки.

Максимальный квантовый выход ФС2 для образцов, выращенных при разных интенсивностях освещения, отличался: значения  $F_v/F_m$  для высокой интенсивности были меньше аналогичных для низкой в среднем на 12% (табл. 1). Такое снижение максимального квантового выхода ФС2 свидетельствует об ингибирующем эффекте длительного воздействия света насыщающей интенсивности на фотосинтетический аппарат растений. При этом не наблюдалось значительных различий в средних значениях  $F_v/F_m$  для листьев, использованных в измерениях с разными интенсивностями действующего света, что говорит об однородности используемого материала и отсутствии возможных повреждений ФС2, способных повлиять на результат эксперимента.

Таблица 1. Значения  $F_v/F_m$  для растений, выдержанных при низкой и высокой интенсивности света.

Интенсивность ДС, мкЭ м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	Низкая интенсивность света		Высокая интенсивность света	
	Красный ДС	Синий ДС	Красный ДС	Синий ДС
40	0,74 ± 0,01	0,73 ± 0,01	0,67 ± 0,03	0,68 ± 0,01
150	0,77 ± 0,01	0,76 ± 0,01	0,61 ± 0,04	0,67 ± 0,02
500	0,76 ± 0,01	0,74 ± 0,02	0,65 ± 0,03	0,69 ± 0,02

Зависимость коэффициента нефотохимического тушения  $NPQ$  от времени при освещении образца имеет двухфазный характер (рис. 7). В первые несколько минут после включения ДС развивается быстрая фаза  $NPQ$  ( $qE$ ), связанная с закислением люмена и активацией регуляторного белка PsbS. Сразу после включения освещения пул переносчиков электронов между ФС полностью восстанавливается, однако цикл Кальвина – Бенсона еще не активен и нециклический транспорт электронов заблокирован. В этом случае возникает псевдоциклический транспорт электронов, создающий путь оттока электронов и одновременно с этим синтезирующий опасный для фотосинтетического аппарата супероксидный радикал  $\dot{O}_2^-$

Затем следует более медленная фаза ( $qZ$ ), при которой в зависимости от интенсивности ДС значение  $NPQ$  может снижаться (40 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) или увеличиваться (150, 500 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>). После нескольких минут освещения происходит активация цикла Кальвина, в котором расходуется АТФ. Активируется АТФ-синтаза, что снижает градиент рН на мембране тилакоидов [7]. В условиях низкой интенсивности ДС это приводит к снижению уровня  $NPQ$ . При более сильном ДС активация цикла Кальвина не способна решить проблему избытка энергии и высокого градиента рН и все дополнительные механизмы нефотохимического тушения включаются в процесс защиты фотосинтетического аппарата от повреждения [8]. Уровень  $NPQ$  после 30 мин

освещения ( $q_{st.st.}$ ) отражает активность процессов, направленных на перераспределение энергии возбуждения между фотосистемами и преобразование избытка энергии в тепло, а также степень фотоингибирования.

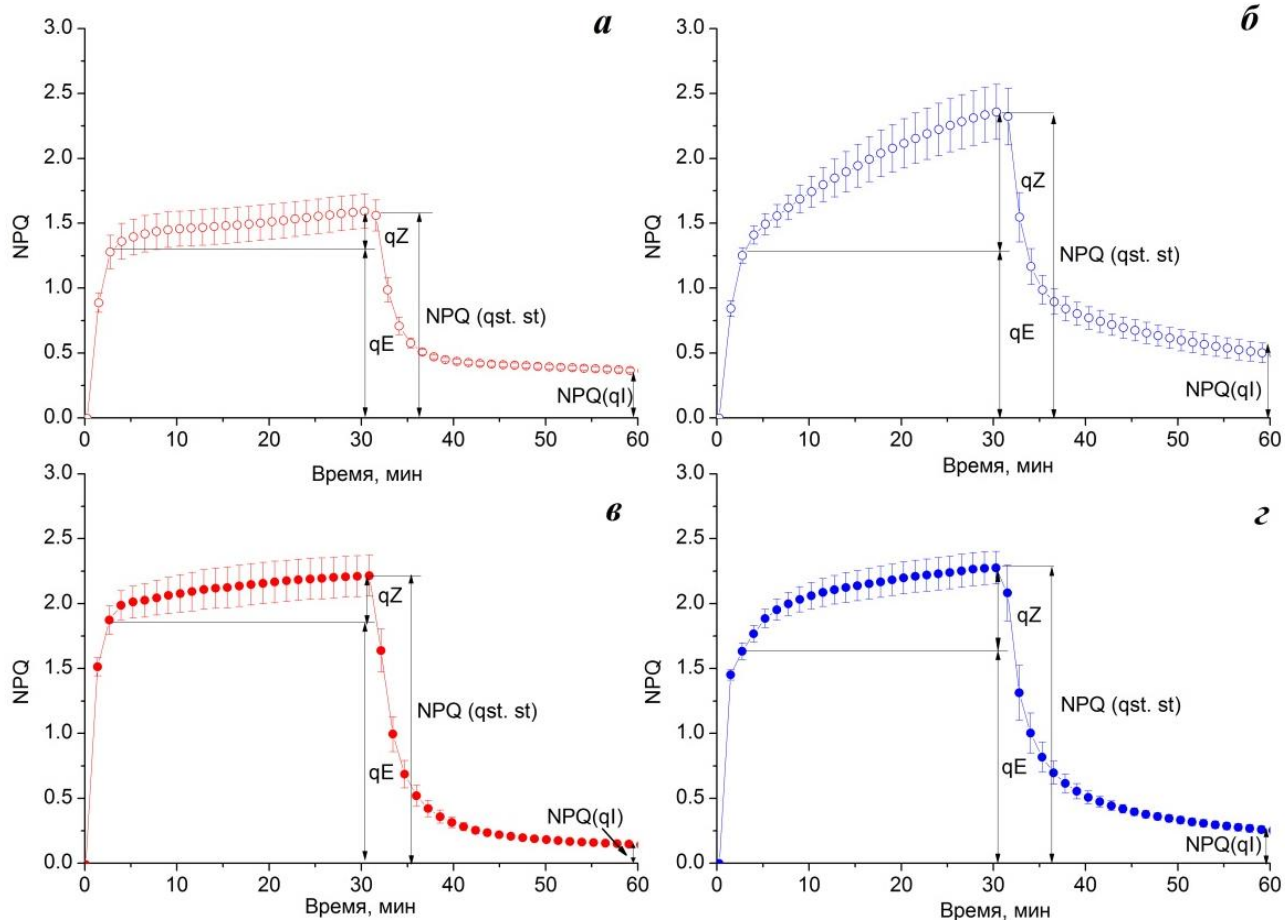


Рис. 7. Характерные изменения коэффициентов нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a* в листьях растений *T. fluminensis*, выдержанных при низкой (а,б) и высокой (в,г) интенсивности освещения, под действием красного (слева) и синего (справа) действующего света ( $500 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ).

После получасовой темновой релаксации величина  $NPQ$  значительно снижается, однако остается отличной от нуля. Данную медленно релаксирующую компоненту нефотохимического тушения принято связывать с фотоингибированием ( $qI$ ). Вклад в величину  $qI$  может вносить не только повреждение пигмент-белковых комплексов избыточным возбуждающим излучением, но и медленные обратимые процессы фотозащиты (образование зеаксантина или *avoidance*-эффект). Исследователями предпринимались попытки разделения вкладов эффектов повреждения и защиты в  $qI$  [8,9]. Изучение флуоресценции экстрактов листьев ячменя при 77 К [8] показало, что время релаксации  $qI$  возрастает по сравнению с экспериментами на листьях при комнатной температуре. Было сделано предположение, что в развитие  $qI$  вносят вклад два процесса: первый с временем релаксации 30-60 с участвует в тушении флуоресценции при комнатной температуре и

исчезает при 77 К, второй, намного более медленный, – проявляется только при высоких интенсивностях возбуждающего света и низких температурах.

На рис. 7 представлены зависимости  $NPQ$  для действующего света 500 мкЭ м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, обладающего ингибирующим эффектом на фотосинтез. При этом можно отметить, что значения  $qZ$  для обоих вариантов растений выше при использовании синего действующего света, эффективно используемого в ФС2 (рис 7, б,г по сравнению с а,в).

В пятой главе исследованы флуоресцентные показатели растений, обработанных различными физиологическими веществами.

В разделе 5.1 изучены флуоресцентные показатели листьев бобов, обработанных фторидом натрия. NaF является специфическим ингибитором фосфатазы и, таким образом, может оказывать влияние на эффективность взаимодействия ФС I и ФС II. Фтор и его соединения являются также загрязнителями окружающей среды и в больших концентрациях оказывают токсическое действие на растения. Установлено, что добавление NaF к хлоропластам бобов приводит к нарушениям в работе ряда ферментов цикла Кальвина – Бенсона, снижает активность АТФ-синтазы и скорость сопряженного с синтезом АТФ нециклического электронного транспорта [10].

Индукционные изменения флуоресценции листьев бобов, обработанных NaF, имеют ряд особенностей по сравнению с контрольными образцами (рис. 8).

Во-первых, общая интенсивность флуоресценции (значения  $F_0$ ,  $F_m$ , стационарный уровень  $F_T$ ) была на 10–15% ниже, чем в контроле (таблица 2). Вероятно, это связано с тем, что выдерживание растений, обработанных ингибитором фосфатазы, на неярком свете при освещенности около 100 лк (от момента обработки листьев до измерений) приводило к увеличению доли ССК, ассоциированных с ФС1, в результате чего эффективный размер антенны ФС2 становился меньше. Вместе с тем, NaF не оказывал влияния на отношение  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ , характеризующее максимальную фотохимическую активность ФС2 (таблица 2). Это свидетельствует о том, что обработка листьев NaF не приводила к повреждению реакционных центров ФС2.

Во-вторых, имеются отличия на начальном участке кривых индукции (стадия P–S–M, рис. 8). При обработке листьев NaF наблюдалось более сильное тушение флуоресценции Хл а на стадии P–S и замедление переходной кинетики P–S–M по сравнению с контролем. Эти эффекты, вероятно, связаны с более сильным уменьшением антенны ФС2 за счет ингибирования фосфатазы, в результате чего восстановление переносчиков электронов между фотосистемами и образование  $\Delta pH$  на мембране тилакоидов замедляются. Стационарные значения коэффициента  $qP$  для



листьев, обработанных NaF, были заметно ниже, чем в контроле (степень восстановленности переносчиков электронов между фотосистемами выше), а стационарные значения  $qN$  – выше (значения  $\Delta pH$  – выше, чем в контроле) (табл. 2). Эти изменения могут быть следствием известного из литературы ингибирующего действия NaF на работу АТФ-синтазного комплекса и основной фермент цикла Кальвина – Бенсона РБФ-карбоксилазу-оксигеназу (Рубиско) [10]. В результате отток восстановленных фотопродуктов от ФС1 и скорость фотофосфорилирования уменьшаются, а степень восстановленности переносчиков между фотосистемами и значения  $\Delta pH$  увеличиваются.

Таблица 2. Флуоресцентные показатели листьев бобов, обработанных растворами NaCl и NaF.

Флуоресцентный показатель	NaCl	NaF
$F_0$	$0,68 \pm 0,02$	$0,60 \pm 0,02$
$F_m$	$3,12 \pm 0,06$	$2,78 \pm 0,04$
$(F_m - F_0)/F_m$	$0,77 \pm 0,01$	$0,78 \pm 0,01$
$F_T$	$1,00 \pm 0,05$	$0,88 \pm 0,03$
$(qP)_{\text{стац}}$	$0,78 \pm 0,04$	$0,55 \pm 0,06$
$(qN)_{\text{стац}}$	$0,45 \pm 0,02$	$0,66 \pm 0,06$
$(F_M - F_T)/F_M$	$1,48 \pm 0,06$	$1,23 \pm 0,05$

Отметим, что отношение  $Rfd = (F_M - F_T)/F_T$  ( $F_M$  и  $F_T$  – значения флуоресценции, соответствующие второму пику М и стационарному уровню Т, при обработке листьев NaF было существенно ниже, чем в контроле (табл. 2). Ранее было показано, что относительные изменения этого показателя соответствуют относительным изменениям фотосинтетической активности, оцениваемой по скорости ассимиляции  $CO_2$  в расчете на хлорофилл [3,4]. Таким образом, можно заключить, что обработка листьев NaF приводила к снижению их фотосинтетической активности, что соответствует изменениям стационарных значений коэффициентов  $qP$  и  $qN$ , отмеченным выше.

**Раздел 5.2.1** посвящен исследованию люминесцентных и физиологических показателей растений тритикале – гибрида пшеницы и ржи. Для стимуляции ростовых процессов тритикале использовали регуляторы роста эпин (действующее вещество эпибрасинолид) и циркон (смесь оксикоричных кислот). Опыт проводился совместно с сотрудниками технологического факультета РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева проф. Л.Э. Гунар и доц. А.Г. Мякинковым.

Растения тритикале, выращенные из семян, которые прошли предпосевную обработку эпином и цирконом, были существенно более развиты по сравнению с

контрольными растениями, их высота на 45–50% превышала контрольные значения (табл. 3). Содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях опытных растений в расчете на сырую массу также было выше, при одновременном увеличении отношения Хл *a*/Хл *b* (табл. 3). Увеличение отношения Хл *a*/Хл *b* в листьях тритикале при обработке семян эпином и цирконом может указывать на изменение стехиометрического соотношения между «коровыми» комплексами фотосистем и светособирающими комплексами. Стационарные значения люминесцентного показателя  $\omega = F_{742}/F_{686}$  у растений тритикале при обработке семян регуляторами роста были примерно на 25% выше, чем у контрольных растений (табл. 3), что соответствует положительной корреляции между стационарным значением  $\omega$  и содержанием хлорофилла [2]. Увеличение показателя  $\omega = F_{742}/F_{686}$  у тритикале при обработке семян регуляторами роста может также свидетельствовать об увеличении фотосинтетической активности опытных растений.

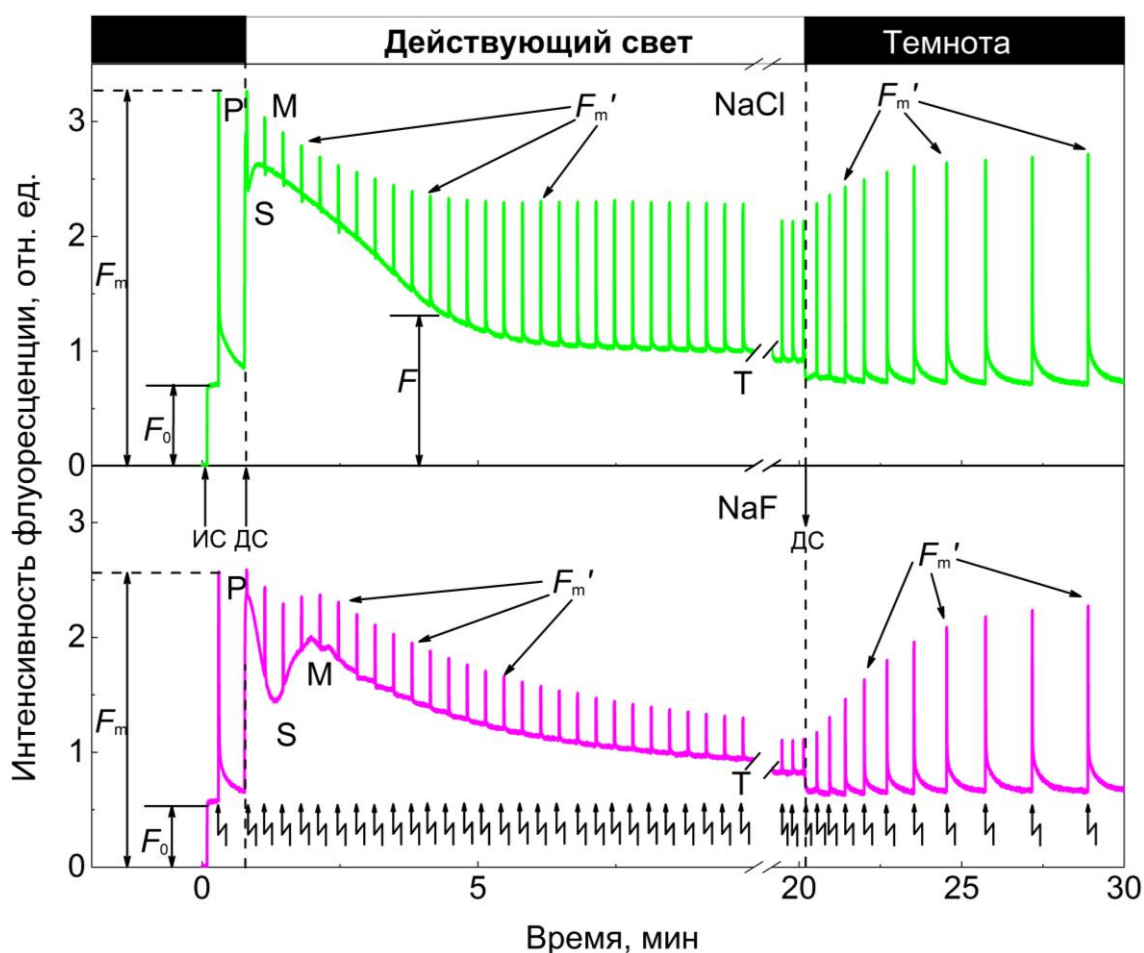


Рис. 8. Характерные изменения интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* в листьях бобов, обработанных растворами NaCl (вверху) и NaF (внизу). ИС – измерительный свет; ДС – действующий свет. Моменты включения измерительного света, включения и выключения действующего света показаны вертикальными стрелками, моменты вспышек света насыщающей интенсивности – зигзагообразными стрелками.

Таблица 3. Люминесцентные ( $F_{742}/F_{686}$ ) и физиологические показатели тритикале при обработке семян эпином и цирконом.

Показатель	Контроль	Эпин	Циркон
$F_{742}/F_{686}$	$1,38 \pm 0,09$	$1,75 \pm 0,10$	$1,69 \pm 0,10$
Высота растений, см	$41,0 \pm 3,0$	$61,0 \pm 6,0$	$60,0 \pm 5,0$
Хл <i>a</i> + Хл <i>b</i> , мг на 1 г сырой массы листа	$1,97 \pm 0,09$	$2,30 \pm 0,12$	$2,30 \pm 0,12$
Хл <i>a</i> / Хл <i>b</i>	$2,34 \pm 0,06$	$2,49 \pm 0,07$	$2,49 \pm 0,07$
Урожайность, т/га	$4,52 \pm 0,25$	$5,22 \pm 0,25$	$5,12 \pm 0,15$

Усиление ростовых процессов у опытных растений тритикале привело к повышению урожайности (на 12–15% по сравнению с контролем, табл. 3) при одновременном увеличении ряда показателей структуры урожая, в частности, общей и продуктивной кустистости и массы 1000 зерен.

В разделе 5.2.2 исследованы флуоресцентные и физиологические показатели растений льна-долгунца, обработанных биопрепаратами ЭкоФус и циркон. Опыт проводился совместно с сотрудниками технологического факультета РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева доц. И.И. Дмитриевской и проф. Л.А. Дорожкиной.

ЭкоФус – новое удобрение растительного происхождения, полученное из морской водоросли фукуса пузырчатого, обладает мощным адаптогенным действием и содержит вещества, необходимые для активного роста и развития растений, повышения их устойчивости к неблагоприятным факторам среды и патогенам.

Циркон – регулятор роста, действующее вещество которого представляет собой смесь гидроксикоричных кислот, выделенных из лекарственного растения эхинацея пурпурная. В стрессовых условиях препарат способствует восполнению недостающих биологически активных соединений иммуномодулирующего и адаптогенного характера.

Наличие антистрессовых свойств у данных препаратов позволяет снизить негативное воздействие гербицидов на культуру при их совместном применении. Снятие фитотоксического воздействия гербицидов на культуру можно проследить по изменению фотосинтетической активности. Оценивая фотосинтетическую работу листового аппарата непосредственно после обработки физиологически активными веществами, можно прогнозировать снижение или повышение урожайности.

Для борьбы с сорной растительностью применяли гербициды в фазе «елочка» льна-долгунца согласно следующей схеме обработки.

1. Контроль (обработка водой, без гербицидов и препаратов).
2. Тифи (250 г/га) + Клео (120 г/га) + Клетодим Плюс Макс (0,7 л/га) – эталон.
3. Гербициды (эталон) + ЭкоФус, 1,5 л/га.

4. Гербициды (эталон) + циркон, 40 мл/га.

5. Гербициды (эталон) + ЭкоФус, 1,5 л/га + циркон, 40 мл/га.

Фотосинтетическую активность оценивали, регистрируя индукционные изменения флуоресценции хлорофилла в листьях льна. Измерения флуоресцентных показателей производили через 1, 3 и 7 дней после обработки растений. Листья льна отделяли от стебля, помещали в специальный держатель и адаптировали к темноте в течение 5 мин. Флуоресценцию возбуждали широкополосным синим светом (лампа накаливания ЛЭТИ-55, стеклянный светофильтр СЗС-22) интенсивностью около 100 Вт/м<sup>2</sup>, регистрировали на длине волны 686 нм. В качестве параметра медленной индукции флуоресценции использовали отношение  $(F_M - F_T)/F_T$ . Кроме того, регистрировали отношение  $F_v/F_m$  листьев льна с помощью импульсного флуорометра РАМ-2500.

Применение препаратов ЭкоФуса и циркона на фоне гербицидов приводило к увеличению значений  $(F_M - F_T)/F_T$  в первые несколько дней после обработки растений (табл. 4), что свидетельствует о стимулирующем действии этих препаратов на фотосинтетический аппарат (увеличению фотосинтетической активности в расчете на хлорофилл [3,4]). Стимулирующее действие препаратов сохранялось более 3 дней, а их смеси – более 7 дней.

Таблица 4. Люминесцентные показатели растений льна, обработанных гербицидами и препаратами Цирконии ЭкоФус.

Вариант	$(F_M - F_T)/F_T$		
	Дни после обработки		
	1 день	3 дня	7 дней
1. Контроль (без обработки)	0,38 (100%)	0,44 (100%)	0,43 (100%)
2. Гербициды	0,46* (121%)	0,49 (111%)	0,46 (107%)
3. Гербициды + ЭкоФус	0,50* (132%)	0,59* (134%)	0,47 (109%)
4. Гербициды + Циркон	0,52* (137%)	0,60* (136%)	0,48 (112%)
5. Гербициды + ЭкоФус + Циркон	0,58* (153%)	0,55* (125%)	0,52* (121%)

Примечание: \* отмечено достоверное увеличение показателей по сравнению с контролем.

В то же время достоверных изменений отношения  $F_v/F_m$  по сравнению с контролем ни в одном из вариантов установлено не было, что свидетельствует об отсутствии существенного влияния гербицидов и их смесей с цирконом и ЭкоФусом на работу реакционных центров фотосистемы 2.

Данные по фотосинтетической активности в целом соответствовали данным по измерению биомассы растений (таблица 5). Наибольшее увеличение биомассы (в 2

раза), как и при регистрации люминесцентных показателей, наблюдалось в случае совместного применения препаратов ЭкоФуса и циркона. Использование ЭкоФуса или циркона совместно с гербицидами оказало практически равное стимулирующее действие на увеличение биомассы растений, она возросла соответственно на 65 и 70%. Длина растений вместе со стержневым корнем также увеличивалась на 44-62%, максимальное увеличение наблюдалось при обработке растений смесью гербицидов с ЭкоФусом (таблица 5).

Таблица 5. Масса и длина растений льна через 7 дней после обработки биопрепаратами и гербицидами.

Вариант	Масса 10 растений, г	Длина с корнем, см
1. Контроль (без обработки)	4,6 (100%)	21,4 (100%)
2. Гербициды	5,9* (128%)	31,0* (145%)
3. Гербициды + ЭкоФус	7,6* (165%)	34,6* (162%)
4. Гербициды + циркон	7,8* (170%)	30,8* (144%)
5. Гербициды + ЭкоФус + циркон	9,4* (204%)	33,0* (154%)

Примечание: (см. табл. 4).

Отметим, что усиление фотосинтетической активности и ростовых процессов в результате применения биопрепаратов в конечном итоге оказало положительное влияние на показатели урожайности льна-долгунца. Максимальное увеличение сохраненной продукции отмечено при опрыскивании посева смесью гербицидов с ЭкоФусом и цирконом. Так, сбор льносоломки в этом случае увеличился на 30%, семян – на 36%, волокна - на 32% по сравнению с контролем. В то же время при опрыскивании льна-долгунца одними только гербицидами роста урожайности отмечено не было, она была на уровне контроля как по сбору льносоломки, так и семян (данные И.И. Дмитриевской).

Полученные данные подтверждают возможность использования люминесцентного метода, основанного на регистрации медленной индукции флуоресценции листа, для экспресс-оценки физиологического состояния растений и прогнозирования показателей урожайности на начальных этапах развития растений.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Исследованы спектры флуоресценции листьев бобов, выращенных при пониженной освещенности, и листьев дуба в условиях осенней деградации хлорофилла. Установлена положительная корреляция между стационарным значением  $\omega = F_{740}/F_{685}$  (в конце индукционного периода) и содержанием хлорофилла в листьях растений. Коэффициент корреляции составил:  $r = 0,98$  для листьев бобов и  $r = 0,96$  для листьев дуба,  $p > 0,95$ . Предполагается, что данная корреляция обусловлена перепоглощением флуоресценции более длинноволновыми формами хлорофилла.

2. Установлены закономерные изменения спектров флуоресценции листьев бобов после включения возбуждающего света – увеличение отношения  $\omega = F_{740}/F_{685}$  в первые 10–20 мин после включения освещения. Предполагается, что этот эффект связан с перераспределением энергии возбуждения между фотосистемами. По мере уменьшения освещенности растений при выращивании степень возрастания  $\omega$  понижается, отражая снижение фотосинтетической активности листа.

3. Исследованы флуоресцентные показатели листьев традесканции после длительного (2–3 месяца) выдерживания растений при высокой и низкой освещенности. Установлено увеличение коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции  $qN$  в варианте высокой освещенности, что свидетельствует об усилении у этих растений механизмов защиты фотосинтетического аппарата от фотоингибирования.

4. Изучены флуоресцентные показатели листьев бобов, регистрируемые методом импульсной флуориметрии, при обработке растений фторидом натрия. Установлено уменьшение значений  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $F_T$ ,  $(qP)_{\text{стац}}$  и увеличение значений  $(qN)_{\text{стац}}$  у листьев, обработанных NaF. Предполагается, что эти изменения связаны с влиянием NaF на перераспределение энергии возбуждения между фотосистемами и его негативным воздействием на АТФ-синтазный комплекс и цикл Кальвина – Бенсона.

5. Исследованы флуоресцентные показатели листьев тритикале и льна-долгунца после обработки регуляторами роста эпином, цирконом и ЭкоФусом. Установлено увеличение значений  $\omega = F_{742}/F_{686}$  после обработки семян тритикале эпином и цирконом и увеличение показателя  $(F_M - F_T)/F_T$  после обработки проростков льна-долгунца цирконом и ЭкоФусом. Эти изменения сопровождались увеличением физиологических показателей, включая показатели урожайности. Полученные данные свидетельствуют о стимулирующем действии исследованных препаратов на фотосинтетический аппарат растений.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // *Curr. Protoc. Food Analyt. Chem.* – 2001. – F4.3.1–F4.3.8.
2. Buschmann C. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves // *Photosynth. Res.* – 2007. – V. 92. – P. 261-271.
3. Караваев В.А. Нелинейные регуляторные процессы в фотосинтезе высших растений. Диссертация доктора физико-математических наук: 03.01.02 М.: МГУ, 1990. – 416 с.
4. Karavaev V.A., Polyakova I.B., Solntsev M.K., Yurina T.P. Effect of various chemical agents on photosynthesis studied by the method of fluorescence induction // *J. Luminescence.* – 1998. – V. 76&77. – P. 335-338.
5. Kouril R., Wientjes E., Bultema J.B., Croce R., Boekema E.J. High-light vs. low-light: effect of light acclimation on photosystem II composition and organization in *Arabidopsis thaliana* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – V. 1827. – P. 411–419.
6. D'Ambrosio N., Szabo K., Lichtenthaler H.K. Increase of the chlorophyll fluorescence ratio F690/F735 during the autumnal chlorophyll breakdown // *Radiat. Environ. Biophys.* – 1992. – V. 31. – P. 51–62.
7. Schreiber U., Klughammer C. Non-photochemical fluorescence quenching and quantum yields in PSI and PSII: Analysis of heat-induced limitations using Maxi-Imaging-PAM and Dual-PAM-100 // *PAM Application Notes.* – 2008. – V. 1. – P. 15–18.
9. Müller P., Li X.-P., Niyogi K.K. Non-photochemical quenching: a response to excess light energy // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 125. – P. 1558–1566.
10. Waiters R.G., Horton P. Resolution of components of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in barley leaves // *Photosynth. Res.* – 1991. – V. 27. – P. 121–133.
11. Giannini J.L., Miller G.W., Pushnik J.C. Effects of NaF on biochemical processes of isolated soybean chloroplasts // *Fluoride.* – 1985. – V. 18. – P. 72–79.

## ПУБЛИКАЦИИ АВТОРА В РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ИЗДАНИЯХ, ИНДЕКСИРУЕМЫХ В БАЗАХ ДАННЫХ WEB OF SCIENCE, SCOPUS, RSCI, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Статьи:*

1. Калмацкая О.А., Левыкина И.П., Пацаева С.В., Караваев В.А., Южаков В.И. Флуоресценция листьев бобов, выращенных при пониженной освещенности //

- Вестник Московского университета. Серия 3. Физика. Астрономия. – 2013. – № 6. – С. 31-34.
2. **Калмацкая О.А.**, Караваев В.А. Флуоресцентные показатели листьев бобов, обработанных фторидом натрия // Биофизика. – 2015. – Т. 60. – № 5. – С. 1018-1023.
  3. **Калмацкая О.А.**, Гунар Л.Э., Караваев В.А., Мякинников А.Г. Люминесцентные и физиологические показатели растений тритикале после обработки семян регуляторами роста // Биофизика. – 2015. – Т. 60. – № 1. – С. 169-172.
  4. **Kalmatskaya O.A.**, Karavaev V.A., Gunar L.E. Fluorescent indices of oak and wheat leaves in dependence on chlorophyll content // Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering. – 2016. – V. 9917. – P. 99170O-1-99170O-6.
  5. Гунар Л.Э., Дмитриевская И.И., Дорожкина Л.А., Караваев В.А., **Калмацкая О.А.** Применение биопрепаратов эхофуса и циркона на льне-долгунце // Агрехимия. – 2017. – № 1. – С. 56–60.

***Тезисы докладов на научных конференциях:***

1. **Калмацкая О.А.**, Левыкина И.П. Спектры флуоресценции листьев бобов при ингибировании электронного транспорта в хлоропластах. Материалы международного молодежного научного форума «Ломоносов-2011». Москва, Россия, 2011, с. 28-29.
2. **Калмацкая О.А.**, Караваев В.А. Изменения флуоресцентных показателей листьев дуба болотного в ходе осенней деградации хлорофилла. Материалы 11 международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования», Пущино, Россия, 2015, с. 218-220.
3. **Калмацкая О.А.**, Караваев В.А. Влияние фторида натрия на фотосинтетический аппарат листьев бобов. Материалы VIII международной научной конференции «Регуляция роста, развития и продуктивности растений», Минск, Белоруссия, 2015, с. 48.
4. **Kalmatskaya O.A.**, Karavaev V.A. Influence of fluoride stress duration on the fluorescence indices of bean leaves. Материалы международного симпозиума и школы «Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии», Москва, Россия, 2016, с. 416.