

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИСТЬЕВ ЯЧМЕНЯ ПРИ АДАПТАЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА К ЗАСУХЕ

Т. Г. Курьянчик*, Н. В. Козел

УДК 577.344

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларусь,
Минск, Беларусь; e-mail: t.kuryanchyk@gmail.com

(Поступила 14 декабря 2022)

Показано, что действие почвенной засухи на начальных этапах развития стресса не вызывает в фотосинтетических мембранах листьев растений ячменя значимых деструктивных процессов, на что указывает отсутствие нарушения фотохимической активности фотосистем 1 и 2. Дефицит влаги в почве вызывает активацию адаптационного механизма, заключающегося в перераспределении энергии между фотосистемами, что минимизирует фотодеструктивное воздействие. Установлено, что в листьях растений ячменя при засухе существенно снижается нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла, в большей степени его регулируемая составляющая, что потенциально опасно, так как при длительном стрессовом воздействии хлоропласты таких растений уязвимы к фотоокислительному стрессу. Подавление регулируемой диссипации энергии в фотосинтетической мемbrane при засухе может быть лимитирующим фактором, определяющим устойчивость растений ячменя к такому стрессовому воздействию.

Ключевые слова: засуха, окислительный стресс, индукция флуоресценции хлорофилла, PAM-флуориметрия, низкотемпературная флуоресценция, фотосинтетический аппарат, ячмень.

It has been shown that the effect of soil drought at the initial stages of stress development does not cause significant destructive processes in the photosynthetic membranes of barley plant leaves, what has been evidenced by the absence of disturbances in the photochemical activity of photosystems 1 and 2. Moisture deficiency in the soil causes the activation of the adaptation mechanism, which consists in the redistribution of energy between PSs, which minimizes the photodestructive effect. It has been established that in the leaves of barley plants during drought, the non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence, which is to a greater extent its regulated component, is significantly reduced. This is potentially dangerous, since the chloroplasts of such plants will be vulnerable to photooxidative stress under prolonged stress. The suppression of the controlled energy dissipation in the photosynthetic membrane during drought may be the limiting factor determining the resistance of barley plants to such stress.

Keywords: drought, oxidative stress, chlorophyll fluorescence induction, PAM-fluorimetry, low-temperature fluorescence, photosynthetic apparatus, barley.

Введение. Среди многочисленных стрессовых факторов в последние десятилетия засуха наиболее существенно влияет на сельскохозяйственное производство, приводя к потере значительной части урожая [1]. Фотосинтетический аппарат (ФСА) растений подвержен воздействию абиотических стрессовых факторов по причине возможности продукции и накопления в хлоропластах активных форм кислорода, количество которых напрямую зависит от степени стрессового воздействия. Чаще всего речь идет о светозависимых деструктивных реакциях, которые называют фотоокислительным стрессом [2]. Индуцировать фотоокислительный стресс в листьях растений ячменя может и засуха [3].

SPECTRAL CHARACTERISTICS OF BARLEY LEAVES DURING ADAPTATION OF THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS TO DROUGHT

T. G. Kuryanchyk*, N. V. Kozel (*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus; e-mail: t.kuryanchyk@gmail.com*)

В условиях недостатка воды в почве ключевую роль играют адаптационные механизмы растительного организма, в том числе механизмы адаптации ФСА, позволяющие растению преодолеть стрессовое воздействие [4]. Расшифровка этих механизмов дает возможность усовершенствовать технологии отбора селекционного материала, а также разработать новые высокоэффективные регуляторы роста растений, что позволит снизить неблагоприятные последствия от действия засухи.

Важным аспектом повышения эффективности сельскохозяйственного производства при стремительном изменении климата, в том числе в условиях частых засух, является мониторинг роста и развития растений. В первую очередь речь идет о высоконформативных экспрессивных биофизических методах оценки состояния растительного организма. Методы контроля фотосинтетической активности представляют наибольший интерес: состояние и функциональная активность ФСА играют ключевую роль с точки зрения продуктивности растений, а сам ФСА представляет собой весьма чувствительную к стрессовым воздействиям систему [5, 6]. С этой точки зрения наиболее информативным неинвазивным методом контроля активности ФСА является метод индукции флуоресценции хлорофилла (Хл), или метод PAM-флуориметрии, основанный на эффекте Каутского [7, 8]. В зависимости от состояния ФСА интенсивность флуоресценции Хл *a in vivo* может существенно изменяться: при освещении предварительно адаптированного к темноте листа интенсивность флуоресцентного сигнала резко возрастает, затем постепенно снижается по мере адаптации фотосистемы (ФС) к фотосинтетически активному свету. Данное явление впервые описано немецким исследователем Каутским. Существуют многочисленные инструментальные подходы для реализации этого биофизического метода. Наибольшее количество полезной информации из кривых индукции флуоресценции Хл позволяет получить измерительный комплекс DUAL-PAM-100 (Heinz Walz GmbH) [9], включая такие показатели, как эффективность функционирования электронтранспортной цепи, константы фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции, максимальный квантовый выход фотохимических реакций ФС2, эффективные квантовые выходы фотохимических реакций ФС1 и ФС2, квантовый выход регулируемой и нерегулируемой диссипации энергии в ФС2, а также квантовые выходы фотохимических реакций ФС1, характеризующие донорные и акцепторные свойства Р700 (первично-го донора ФС1) [10, 11]. Применимость метода индукции флуоресценции Хл как высоконформативного биофизического подхода для оценки состояния растительного организма широко описана в литературе (см., например, [12—14]). В контексте данного исследования представляет интерес использование измерительного комплекса DUAL-PAM-100 в сочетании с молекуларно-биологическими подходами для контроля за состоянием и функциональной активностью ФСА растений в условиях засухи.

Помимо метода индукции флуоресценции Хл для оценки структурно-функционального состояния ФСА фототрофов часто применяется метод регистрации флуоресценции растительной ткани при температуре жидкого азота (77 К). Регистрируемые параметры низкотемпературной флуоресценции хлорофилловых молекул хлоропластных мембран отражают способность к флуоресценции пигмент-белковых светособирающих комплексов (ССК) как ФС1, так и ФС2. Метод используется для анализа структурно-функционального состояния ФСА уже на протяжении 30 лет, идентифицирована принадлежность всех полос флуоресценции к различным ССК хлоропластов фототрофов [15].

Ранее [16, 17] была показана применимость метода индукции флуоресценции Хл в сочетании с методом регистрации флуоресценции растительной ткани при температуре 77 К для исследования функциональной активности ФСА листьев высших растений (ячменя и огурца) в условиях действия фотоокислительного стресса и при адаптации растений к изменению спектрального состава фотосинтетически активной радиации. С точки зрения исследования адаптационных механизмов ФСА при фотоокислительном стрессе метод индукции флуоресценции Хл позволяет не только оценить фотохимическую активность ФС, но и получить ценную информацию о диссипации энергии в фотосинтетической мемbrane за счет работы ксантофилового цикла [18]. Этот механизм крайне важен для защиты реакционных центров ФС2 от фотоповреждения. В свою очередь метод регистрации низкотемпературной флуоресценции растительной ткани позволяет оценить перераспределение энергии поглощенных ССК квантов света между ФС, которое реализуется в результате миграции ССК внешней антенны от ФС2 к ФС1 (эффект переливания через край) и/или при перераспределении синтеза белков пигмент-белковых комплексов ФС [17, 19].

Цель настоящей работы — выявление особенностей изменения спектральных характеристик листьев растений ячменя, полученных методом индукции флуоресценции Хл и путем регистрации флуоресценции листьев при температуре 77 К, для исследования механизмов адаптации ФСА растений на начальных этапах действия почвенной засухи.

Эксперимент. В качестве объекта исследования выбран первый лист зеленых проростков ячменя (*Hordeum vulgare L.*) сорта Аванс, выращенных в строго контролируемых лабораторных условиях в режиме 14 ч света при интенсивности освещения 6000 люкс (150 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$)) и 10 ч темноты под люминесцентными лампами Philips TD-36/765 при температуре 23 ± 1 °C и относительной влажности воздуха 35 ± 2 % в нормальных условиях — ежедневный полив водопроводной водой из расчета 25 мл воды на 300 г влажного грунта (вариант “Контроль”), и при засухе — растения не поливали с момента посадки в почву (вариант “Засуха”). Семена растений ячменя предварительно проращивали на пластиковых асептически обработанных сетках при 23 ± 1 °C в течение 1 сут. Затем отобранные по размеру корней семена высаживали в сосуды, заполненные 300 г влажного почвогрунта (начальная влажность 50 ± 3 %) “Восторг” (ООО “Карис”, Беларусь), и выращивали в течение 7 сут. Влажность почвогрунта в конце эксперимента для варианта “Контроль” 50 ± 3 %, для варианта “Засуха” 37 ± 3 %. Массовая доля воды в листьях контрольных растений 92 ± 1 %, опытных — 89 ± 1 %.

Фотохимическая активность ФС листьев растений ячменя зарегистрирована с помощью измерительного комплекса DUAL-PAM 100 (Heinz Walz, Германия) с модулем регистрации флуоресценции ФС2 и двухволновым (830/875 нм) модулем регистрации сигнала первичного донора ФС1 (P700) [9]. Параметры активности ФС1 и ФС2 листьев растений ячменя рассчитаны согласно [14]. Темновая адаптация листьев осуществлена в течение 15 мин. Интенсивность измерительного света 0.048 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$) ($\lambda_{возб} = 460$ нм), актиничного (фотосинтетически активного) 131 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$), насыщающих вспышек — 10000 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$). В качестве актиничного света и для насыщающих вспышек использован свет с $\lambda = 635$ нм. Регистрировали фоновую флуоресценцию Хл после темновой адаптации (F_0) и при включении актиничного света (F'_0), максимальный уровень флуоресценции F_m , а также изменение интенсивности флуоресценции с уровня F до F'_m после вспышки насыщающего света на фоне действия актиничного. Рассчитаны вариабельная флуоресценция ($F_v = F_m - F_0$), потенциальный квантовый выход фотохимии ФС2 ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$), эффективный квантовый выход фотохимии ФС2 ($Y(II) = (F_m - F)/F'_m$), константа фотохимического ($qP = (F'_m - F)/(F'_m - F_0)$) и нефотохимического ($qN = (F_m - F'_m)/(F_m - F'_0)$) тушения флуоресценции Хл и скорость транспорта электронов ($ETR(I/II) = Y(I/II) \times PAR \times c \times 0.5$), где PAR — интенсивность фотосинтетически активной радиации (131 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$)), c — часть абсорбированного света (84 %), 0.5 — часть фотосинтетически активной радиации, приходящейся на одну ФС [10, 11]. Параметр NPQ , который является мерой нефотохимического тушения флуоресценции, отражающей давление ФС2 как защитного механизма от избыточной интенсивности света, рассчитан по формуле $NPQ = (F_m - F'_m)/F'_m$ [20].

Для оценки редокс-состояния реакционного центра ФС1 зарегистрирован сигнал P700 (P), который представляет собой разницу интенсивностей модулированного измерительного света с $\lambda = 875$ и 830 нм ($\Delta(I_{875} - I_{830})$), достигающего фотодетектора, и может варьировать от минимального (P700 полностью восстановлен) до максимального уровня (P700 полностью окислен). Значение P_m (P700 полностью окислен) определено с помощью насыщающего импульса (10000 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$)) после предварительного освещения листа светом с длиной волны 730 нм, поглощаемым исключительно ФС1. Значение P'_m определяли аналогично P_m , но с использованием актиничного света (635 нм) в качестве фонового вместо света с длиной волны 730 нм. Эффективный квантовый выход фотохимии ФС1 ($Y(I) = (P'_m - P)/P_m$) определен долей от общего количества P700, который в данном состоянии восстановлен независимо от акцепторной стороны. Значение $Y(ND) = P/P_m$ представляет собой долю общего P700, окисленного в данном состоянии, $Y(NA) = P_m - P'_m/P_m$ — долю от общего количества P700, который не может быть окислен насыщающим импульсом из-за отсутствия окисленных акцепторов [11].

Кривые, демонстрирующие изменение эффективности работы электротранспортной цепи ФС1 и ФС2, зарегистрированы при интенсивностях актиничного света 11, 18, 27, 58, 100, 131, 221, 344, 536 и 830 мкмоль · квант/($m^2 \cdot c$) (длина интервала между насыщающими вспышками 30 с).

Спектры флуоресценции листьев растений ячменя при температуре 77 К зарегистрированы с помощью флуориметра Solar CM 2203 (Беларусь) с адаптированным производителем под установку со- суда Дьюара кюветным отделением. Флуоресценцию возбуждали монохроматическим светом с длиной волны 440 нм, соответствующей максимуму полосы Соре хлорофиллов [17]. Для получения достоверных результатов регистрировали спектры низкотемпературной флуоресценции не менее 30 листьев ячменя каждого варианта одной биологической повторности.

Для статистической обработки экспериментальных данных и регистрации полученных результатов использованы программы Excel 2019 (Microsoft) и SigmaPlot 12.5 (Systat software) и статистические методы, принятые в области биологических исследований [21]. Основными статистическими характеристиками служили средняя арифметическая величина (\bar{x}), среднее квадратическое (стандартное) отклонение (s). Достоверность различий между вариантами определена с учетом коэффициента Стьюдента (t), для принятого уровня значимости ($p \leq 0.05$) и данного числа степеней свободы ($k = n - 1$, где n — величина выборки). Все описанные эксперименты проводили в четырехкратной биологической повторности.

Результаты и их обсуждение. Параметры флуоресценции Хл и редокс-состояния P700 получены на основании регистрации медленной кинетики индукции флуоресценции Хл и кинетики изменения сигнала P700 интактных зеленых листьев растений ячменя, выращенных в почве в условиях нормального полива и при засухе. Типичные кривые кинетики представлены на рис. 1. Видна разница в уровне флуоресценции и сигнале P700 между контрольными и опытными растениями.

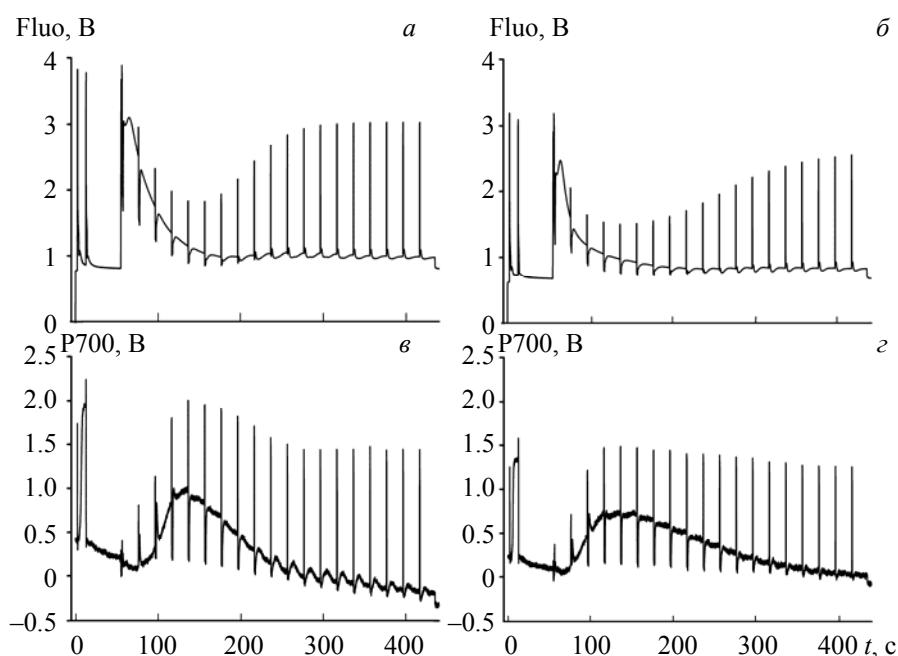


Рис. 1. Типичные кривые медленной кинетики индукции флуоресценции Хл (*a*, *b*) и кинетики изменения сигнала P700 (*c*, *d*) листьев растений ячменя, выращенных в нормальных условиях (*a*, *c*) и при засухе (*b*, *d*)

Установлено, что засуха приводит к достоверному снижению на 13 % уровня фоновой флуоресценцию Хл (F_0) и на 17 % максимального уровня флуоресценции F_m адаптированных к темноте листьев растений ячменя (табл. 1). Также тенденция к снижению зарегистрирована для уровня сигнала P700 (параметры P_m и $P_{m'}$), однако различия не достоверны при заданном уровне значимости. Снижение указанных параметров индукции флуоресценции Хл и первичного донора ФС1 связаны с изменением содержания хлорофилловых пигментов в фотосинтетических мембранах. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии показано, что в условиях засухи достоверно снижается в среднем на 13 % содержание Хл *a* и *b* [3], что является причиной снижения уровней F_0 , F_m , P_m и $P_{m'}$. При анализе параметров, характеризующих фотохимическую активность ФС, — потенциального квантового выхода фотохимии ФС2 F_v/F_m , эффективного квантового выхода фотохимии ФС2 $Y(II)$ и ФС1 $Y(I)$, $Y(ND)$, $Y(NA)$, константы фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла qP , а также скорости транспорта электронов ETR (I/II) — не выявлено достоверного влияния на них засухи, что указывает на отсутствие нарушения работы ССК и электронтранспортной цепи хлоропластов в условиях действия стресса (табл. 1). Для подтверждения этого предположения зарегистрированы кривые, отражающие изменение эффективности работы электронтранспортной цепи ФС1 и ФС2 (показатель ETR) листьев растений ячменя, выращенных в нормальных условиях и при засухе, в зависи-

ности от интенсивности актиничного света. Изменение интенсивности актиничного света в широких пределах (от 11 до 830 мкмоль · квант/($m^2 \cdot s$)) при регистрации параметров индукции флуоресценции Хл и P700 позволяет выявить нарушение фотохимической активности ФС в случаях, когда это не удается сделать на основании данных медленной кинетики индукции флуоресценции, регистрируемой при фиксированной интенсивности актиничного света [22]. Анализ кривых показывает, что даже при крайне высоких интенсивностях актиничного света (до 830 мкмоль · квант/($m^2 \cdot s$)) не наблюдается достоверных различий в скорости транспорта электронов в пределах ФС1 и ФС2 для контрольного и опытного вариантов (рис. 2).

Т а б л и ц а 1. Параметры индукции флуоресценции хлорофилла реакционного центра ФС2 и редокс-состояния первичного донора электронов ФС1 P700, листвьев растений ячменя, выращенных в нормальных условиях (контроль) и при засухе

Параметр	Контроль	Засуха
F_0	0.76 ± 0.05	$0.65 \pm 0.06^*$
F_m	3.99 ± 0.24	$3.31 \pm 0.30^*$
F_v/F_m	0.81 ± 0.01	0.80 ± 0.01
$Y(II)$	0.67 ± 0.01	0.68 ± 0.02
$ETR(II)$	36.86 ± 0.64	37.78 ± 0.92
NPQ	0.29 ± 0.02	$0.19 \pm 0.05^*$
qN	0.26 ± 0.01	$0.20 \pm 0.04^*$
qP	0.87 ± 0.01	0.88 ± 0.01
P_m	1.63 ± 0.20	1.43 ± 0.12
P_m'	1.44 ± 0.16	1.28 ± 0.13
$Y(I)$	0.85 ± 0.01	0.83 ± 0.02
$ETR(I)$	46.89 ± 0.61	45.61 ± 0.86
$Y(ND)$	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.02
$Y(NA)$	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02

П р и м е ч а н и е. Приведены средние значения \pm стандартное отклонение ($x \pm s$).

* Различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0.05$.

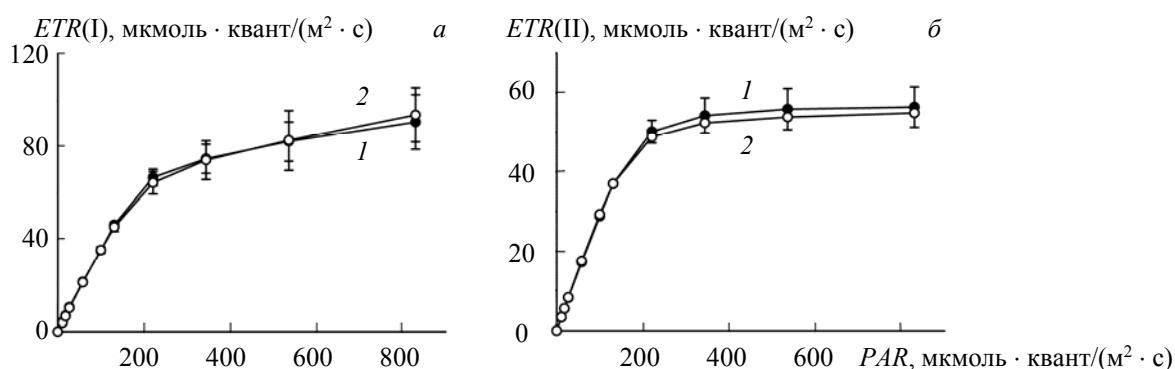


Рис. 2. Зависимости эффективности работы электротранспортной цепи ФС1 (а) и ФС2 (б) листвьев растений ячменя, выращенных в нормальных условиях (контроль (1)) и при засухе (2), от интенсивности актиничного света; приведены средние значения \pm стандартное отклонение ($x \pm s$)

Помимо фотохимической активности ФСА метод индукции флуоресценции Хл позволяет оценить вклад нефотохимических процессов в тушение флуоресценции. Показатели qN и NPQ являются мерой нефотохимического тушения флуоресценции Хл, отражая его общую и регулируемую составляющие. Согласно полученным данным (табл. 1), как в контроле, так и в эксперименте величины qN и NPQ сопоставимы (в пределах погрешности), что указывает на отсутствие либо крайне малый вклад нерегулируемой диссипации энергии в фотосинтетической мембране, которая обычно является следствием деструктивных процессов. Таким образом, нефотохимическое тушение флуоресценции Хл, регистрируемое в листьях растений ячменя как в нормальных условиях, так и при засухе, обу-

словлено в основном работой ксантофилового цикла [18]. Однако в условиях засухи достоверно регистрируется снижение qN и NPQ относительно контроля на 23 и 34 %. Снижение параметров нефотохимического тушения флуоресценции Хл, в большей степени его регулируемой составляющей (NPQ), в условиях засухи связываем с существенным уменьшением содержания в листьях ячменя при действии этого стрессового фактора каротиноидов, прежде всего ксантофилловых, которые вносят основной вклад в регуляцию диссипации избыточной энергии в фотосинтетической мембране [3]. Растения ячменя сорта Аванс характеризуются невысокой устойчивостью к засухе. Подавление регулируемой диссипации энергии в фотосинтетической мембране при засухе может быть лимитирующим фактором, определяющим устойчивость этого сорта ячменя к такому стрессовому воздействию.

Метод индукции флуоресценции Хл основан на регистрации флуоресценции фотосинтезирующих тканей при комнатной температуре, когда в спектре обычно преобладает только полоса с максимумом при 685 нм, принадлежащая излучению Хл a внутренней антенны ФС2, а изменения уровня флуоресценции обусловлены фотохимическими и нефотохимическими диссипационными процессами. При температуре жидкого азота отсутствуют либо минимизированы тепловая диссипация энергии в ССК и фотохимические процессы и в спектрах преобладает полоса с максимумом при 740 нм, принадлежащая флуоресценции хлорофиллов ССК ФС1, а также регистрируется полоса 690 нм, принадлежащая флуоресценции Хл a реакционного центра ФС2 [15]. Изменение соотношения между интенсивностями флуоресценции полос ФС1 и ФС2 (740 и 690 нм) в отсутствие явных деструктивных процессов в хлоропластах обусловлены адаптационными механизмами, в основе которых лежит перераспределение энергии между ФС для защиты реакционных центров от фотоповреждения.

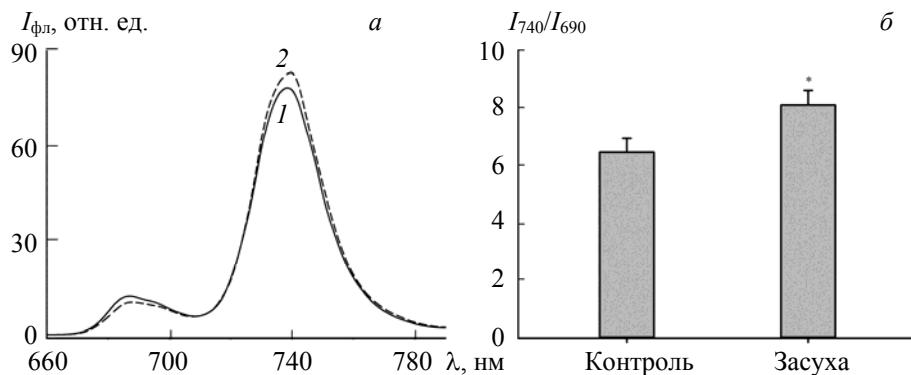


Рис. 3. Спектры (а) и отношение интенсивностей при 740 и 690 нм (б) низкотемпературной флуоресценции листьев растений ячменя, выращенных в нормальных условиях (контроль (1)) и при засухе (2), $\lambda_{\text{возб}} = 440$ нм; приведены средние значения \pm стандартное отклонение ($x \pm s$), различия по сравнению с контролем достоверны, $p \leq 0.05$

Анализ спектров низкотемпературной флуоресценции (77 К) зеленых листьев растений ячменя, выращенных в условиях нормального полива (контроль) и при засухе, показывает, что регистрируются два указанных максимума — при 690 и 740 нм (рис. 3, а), однако при действии засухи на растения наблюдаются изменения в спектрах флуоресценции листьев при температуре 77 К. Установлено, что в таких условиях происходит снижение интенсивности флуоресценции полосы при 690 нм на фоне увеличения выхода флуоресценции при 740 нм по сравнению со спектрами контрольных растений (рис. 3, а). Соответственно увеличивается (в среднем на 26 %) отношение интенсивности флуоресценции при 740 нм к интенсивности флуоресценции при 690 нм по сравнению с контролем (рис. 3, б). Такое изменение соотношения интенсивностей низкотемпературной флуоресценции можно объяснить перераспределением между ФС за счет миграции комплексов внешней антенны от ФС2 к ФС1 (spillover-effect, или эффект переливания через край) [19].

Заключение. Показано, что действие почвенной засухи на начальных этапах развития стресса не вызывает в фотосинтетических мембранных листьев растений ячменя значимых деструктивных процессов, на что указывает отсутствие нарушения фотохимической активности фотосистем 1 и 2. Дефицит воды в почве вызывает активацию адаптационного механизма, заключающегося в перераспределении энергии между фотосистемами, вероятно, за счет миграции светособирающих комплексов

внешней антенны, что минимизирует фотодеструктивное воздействие. Установлено, что в листьях растений ячменя при засухе существенно снижается нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла, причем в большей степени его регулируемая составляющая, что потенциально опасно, так как при более длительном стрессовом воздействии хлоропласты таких растений будут более уязвимы к фотоокислительному стрессу. Подавление регулируемой диссипации энергии в фотосинтетической мембране при засухе может быть лимитирующим фактором, определяющим устойчивость растений ячменя к такому стрессовому воздействию.

- [1] **O. Ahluwalia, P. C. Singh, R. Bhatia.** Resources, Environ. and Sustainability (2021), <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032>
- [2] **A. Kumar, A. Prasad, M. Sedlářová, B. Ksas, M. Havaux, P. Pospíšil.** Free Radical Biology and Medicine, **160**, N 3 (2020) 894—907, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.027>
- [3] **Т. Г. Каляга, Н. В. Козел.** Журн. Бел. гос. ун-та. Биология, N 3 (2020) 46—53, <https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-3-46-53>
- [4] **S. Talbi, J. A. Rojas, M. Sahrawy, M. Rodriguez-Serrano, K. E. Cardenas, M. Debouba, L. M. Sandalio.** Environ. Exp. Bot., **176** (2020) Art.104099, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104099>
- [5] **M. Ashraf, P. J. C. Harris.** Photosynthetica, **51**, N 2 (2013) 163—190, <https://doi.org/10.1007/s11099-013-0021-6>
- [6] **A. Sezgin, C. Altuntaş, M. Demiralay, S. Cinemre, R. Terzi.** J. Plant Physiology, **232** (2019) 65—73, <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.11.026>
- [7] **H. Kautsky, A. Hirsch.** Naturwissenschaften, **19** (1931) 964—969
- [8] **Д. Ю. Корнеев.** Информационные возможности метода индукции флуоресценции, Киев, Альтер-пресс (2002) 5—7
- [9] Dual-PAM-100 Measuring System for Simultaneous Assessment of P700 and Chlorophyll Fluorescence. Instrument Description and Instructions for Users, Germany, Heinz Walz GmbH (2009) 3—26
- [10] **D. M. Kramer, G. Johnson, O. Kiirats, G. E. Edwards.** Photosynthesis Res., **79** (2004) 209—218, <https://doi.org/10.1023/B:PRES.0000015391.99477.0d>
- [11] **C. Klughammer, U. Schreiber.** Planta, **192** (1994) 261—268, <https://doi.org/10.1007/BF01089043>
- [12] **H. M. Kalaji, L. Račková, V. Paganová, T. Swochyna, S. Rusinowski, K. Sitko.** Environ. Exp. Botany, **152** (2018) 149—157, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.001>
- [13] **A. Stirbet, D. Lazár, J. Kromdijk, Govindjee.** Photosynthetica, **56** (2018) 86e104, <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0770-3>
- [14] **M. S. Makarenko, N. V. Kozel, A. V. Usatov, O. F. Gorbachenko, N. G. Averina.** OnLine J. Biol. Sci., **16**, N 4 (2016) 193—196, <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2016.193.198>
- [15] **В. Г. Ладыгин.** Физиол. растений, **45**, № 5 (1998) 741—762
- [16] **Н. В. Шалыго, Н. В. Козел.** Журн. прикл. спектр., **73** (2006) 266—269 [**N. V. Shalygo, N. V. Kozel.** J. Appl. Spectr., **73** (2006) 301—304], <https://doi.org/10.1007/s10812-006-0073-5>
- [17] **Ю. В. Вязов, Н. В. Козел, В. П. Доманский, Н. В. Шалыго.** Журн. прикл. спектр., **81** (2015) 929—934 [**Y. V. Viazau, N. V. Kozel, V. P. Domanski, N. V. Shalygo.** J. Appl. Spectr., **81** (2015) 1019—1024], <https://doi.org/10.1007/s10812-015-0044-9>
- [18] **D. Latowski, P. Kuczyńska, K. Strzałka.** Redox Rep., **16**, N 2 (2011) 78—90, <https://doi.org/10.1179/174329211X13020951739938>
- [19] **Y. Ueno, S. Aikawa, A. Kondo, S. Akimoto.** J. Phys. Chem. Lett., **7** (2016) 3567—3571, <https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.6b01609>
- [20] **F. Busch, N. P. A. Hunter, I. Ensminger.** Funct. Plant. Biol., **36** (2009) 1016—1026, <https://doi.org/10.1071/FP08043>
- [21] **П. Ф. Рокицкий.** Биологическая статистика, Минск (1973) 28—50
- [22] **J. Manoyan, T. Samovich, N. Kozel, V. Demidchik, L. Gabrielyan.** Int. J. Hydrogen Energy, **47**, N 38 (2022) 16815—16823, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.03.194>