

На правах рукописи

Сухова Екатерина Михайловна

**ОЦЕНКА ПРИМЕНИМОСТИ НОРМАЛИЗОВАННЫХ
ИНДЕКСОВ ОТРАЖЕНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛОКАЛЬНОГО И
СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ НА ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ**

1.5.2 — биофизика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород – 2022

Работа выполнена на кафедре биофизики Института биологии и биомедицины Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород

Научный руководитель:

Сухов Владимир Сергеевич

кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биофизики Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»

Официальные оппоненты:

Ризниченко Галина Юрьевна

доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры биофизики биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Борисова Мария Мансуровна

доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе; ведущей научный сотрудник лаборатории фотосинтетического электронного транспорта с исполнением обязанностей заведующего лабораторией Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук (ИФПБ РАН) Обособленного подразделения ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

Ведущая организация:

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук

Защита состоится «16» февраля 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, проспект Гагарина, д. 23, корпус 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского и на сайте

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Акинчиц Елена Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Растения играют важную роль в жизни Земли, являясь источником питательных веществ для человека и животных, а также выполняя средообразующую и климатообразующую роль (Makarieva, Gorshkov, 2007; Ellison et al., 2017). Однако растения ведут прикрепленный образ жизни, что повышает их уязвимость к действию неблагоприятных факторов. Влияние засухи, избыточного света и высокой температуры снижает продуктивность растений и может ухудшать качество урожая (Fahad et al., 2017). Дистанционный мониторинг состояния растений является основой для своевременного принятия защитных мер и поддержания продуктивности растений (Berni et al., 2014; Sun et al., 2021).

В настоящее время методы дистанционного мониторинга состояния растений активно развиваются; одно из важных направлений такого развития базируется на выявлении связей параметров растений и их оптических характеристик. Основные методы оптического дистанционного мониторинга включают в себя измерение флуоресценции хлорофилла, тепловидение, RGB-имиджинг и анализ спектральных характеристик отраженного растением света (Jang et al., 2020). Последнее является наиболее перспективным направлением благодаря сильной связи таких характеристик с физиологическими показателями, биохимическим составом и структурой растений (Хуе, Су, 2017).

Однако анализ полных спектров отраженного света является относительно трудоёмким и несет значительную избыточную информацию, что осложняет интерпретацию результатов. Использование нормализованных индексов отражения, рассчитанных на основании интенсивностей отраженного света на ограниченном количестве узких спектральных диапазонов (обычно две или три длины волны, связанные с определенными физиологическими параметрами или пигментами), упрощает интерпретацию результатов измерений и позволяет технически реализовать более простые системы дистанционного мониторинга (Jang et al., 2020). Поиск новых индексов отражения, эффективно выявляющих действие неблагоприятных факторов на активности физиологических процессов, расширяет возможности существующих методов оценки состояния растений и позволяет разрабатывать новые подходы.

Большой интерес для исследователей представляет и более детальные исследования применимости ранее предложенных индексов отражения; в частности, в литературе активно рассматривается фотохимический индекс отражения (photochemical reflectance index, PRI), который обычно рассчитывается на основании интенсивности отраженного света при 531 и 570 нм (Gamon et al., 1992; Zhang et al., 2016). Этот индекс потенциально чувствителен к быстрым изменениям фотосинтетических процессов (прежде всего, стрессовым изменениям) и широко применяется в системах дистанционного мониторинга; однако, существенной проблемой использования PRI является сильная вариативность его связи с активностью фотосинтеза (Zhang et al., 2016).

Развитие методов оценки состояния растений на основе спектральных характеристик отраженного света может базироваться не только на усовершенствовании измеряемых индексов, но также на оценке пространственного распределения таких индексов. В частности, известно, что важной особенностью растений является неоднородность их оптических свойств в пространстве (Ollinger, 2011). Она может быть обусловлена пространственными различиями как в структуре листьев и кроны растений (Kattenborn et al., 2019; Knapp, Carter, 1998), так и в составе и соотношении пигментов (Esteban et al., 2015). Источником оптической неоднородности может быть также пространственная неоднородность распределения фотосинтетической активности по растению (Rascher, Nedbal, 2006; Tikkanen et al., 2012), так как такая активность тесно связана с отражением света

растениями в видимом диапазоне (Kume et al., 2018). Можно предполагать, что исследование неоднородности распределения индексов отражения может иметь существенное значение для поиска новых критериев действия неблагоприятных факторов на растения.

Таким образом, развитие методов оценки влияния неблагоприятных абиотических факторов на растения, основанных на измерениях индексов отражения, остается важной научной задачей, требующей комплексного исследования.

Цель и задачи

Целью исследования была оценка применимости нормализованных индексов отражения для выявления локального и системного действия неблагоприятных абиотических факторов на высшие растения (на примере водного дефицита, почвенной засухи, повышенной температуры и локального ожога). Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Выполнить комплексное исследование изменений нормализованных индексов отражения при локальном и системном действии неблагоприятных абиотических факторов на растения.
2. Исследовать эффективность использования фотохимического индекса отражения для оценки состояния растений в условиях действия на них неблагоприятных факторов.
3. Исследовать пути быстрых изменений фотохимического индекса отражения при действии неблагоприятных факторов.
4. Исследовать возможность использования пространственной неоднородности распределения фотохимического индекса отражения и фотосинтетических характеристик листа для выявления действия неблагоприятных факторов на растения.

Научная новизна работы

На основе комплексного исследования достоверности различий индексов отражения листьев в опыте и контроле были предложены новые индексы, показывающие высокую эффективность для выявления изменений состояния растений при засухе.

Было показано, что локальные ожоги и индуцированные ими электрические сигналы вызывают выраженные изменения спектров отражения света растениями, которые проявляются в изменениях нормализованных индексов отражения.

Была показана связь фотохимического индекса отражения с быстро-релаксирующей компонентой нефотохимического тушения (NPQ_F) и квантовым выходом фотосистемы I (Y_I).

Был разработан метод измерения фотохимического индекса отражения на основе применения импульсов желто-зеленого измерительного света, который позволяет снизить влияние фонового освещения при измерении индекса.

Была обнаружена стимуляция пространственной неоднородности активности световой стадии фотосинтеза и фотохимического индекса отражения у листа при действии абиотических факторов и предложен потенциальный механизм ее возникновения.

Научно-практическая значимость работы

Полученные результаты (в частности, разработка новых нормализованных индексов отражения, выявление большей эффективности светоиндуцированных изменений PRI и др.) являются основой для создания новых методов дистанционного мониторинга состояния растений.

Предложенный метод измерения фотохимического индекса отражения на основе использования импульсов измерительного света повышает точность измерений

показателя. На основе предложенного метода разработана новая система PRI-имиджинга (совместно с ИПФ РАН), которая может быть использована как инструмент для проксимального мониторинга состояния растений.

Выявленная стимуляция пространственной неоднородности фотосинтетического ответа и индексов отражения может быть использована в качестве дополнительного критерия для выявления действия неблагоприятных факторов на растения при их дистанционном мониторинге.

Собственный вклад автора в исследования

На всех этапах выполнения работы автор принимал личное участие в её проведении, включая планирование, подготовку и выполнение экспериментов, анализ полученных результатов (включая разработку программных инструментов для анализа данных) и последующее их обсуждение. Автор осуществлял разработку, параметризацию и верификацию математической модели, включая разработку программного инструмента для ее численного решения; разработанная модель была использована автором в качестве дополнительного инструмента исследования. Автор принимал ключевое участие в написании научных статей и представлении результатов исследований на всероссийских и международных научных конференциях.

Положения, выносимые на защиту

1. Предложены два новых нормализованных индекса отражения, рассчитываемые на основании длин волн 613 и 605 нм и длин волн 670 и 432 нм, которые имеют высокую чувствительность к действию на растения кратковременного водного дефицита, почвенной засухи и высокой температуры.

2. Локальное повреждение (ожог) и индуцированные им распространяющиеся электрические сигналы вызывают изменения индексов отражения у растений, включая значительные изменения фотохимического индекса отражения.

3. Фотохимический индекс отражения является чувствительным показателем развития фотосинтетических ответов растения при действии неблагоприятных абиотических факторов; однако, эффективность его применения может быть повышена путем увеличения точности измерений индекса (с использованием импульсов желто-зеленого измерительного света), анализа светоиндуцированных изменений PRI и применения модифицированных фотохимических индексов отражения с большей измерительной длиной волны (в частности, 555 нм).

4. Возрастание пространственной неоднородности активности световой стадии фотосинтеза и фотохимического индекса отражения в плоскости листа является ответом на действие засухи и сильный свет. Механизмы такого возрастания могут быть связаны с состоянием устьиц.

Апробация работы

Основные результаты диссертационного исследования были представлены и обсуждены на “8th International Conference Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability-2017” (Индия, Хайдерабад, 2017); “VIII Съезде Российского фотобиологического общества. Всероссийская конференция Современные проблемы фотобиологии” (Шепси, 2017); “Втором международном агроэкологическом форуме” (Санкт-Петербург, 2021); “IX Съезде Российского фотобиологического общества. Всероссийская конференция Современные проблемы фотобиологии” (Шепси, 2021).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 18 работ, включая 1 патент и 14 статей в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), рекомендованных ВАК, в том числе 2 обзора.

Конкурсная поддержка работы

Проведенные исследования были выполнены при поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований, включая проекты, в которых диссертант являлся руководителем (проекты 18–34-00644-мол_а, 20-016-00234 А и 20-316-80030 мол_эв_а) и исполнителем (проекты 20-34-90086 Аспиранты), а также грантов Российского научного фонда (проекты 14-26-00098 и 17-76-20032, исполнитель).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и содержит 46 рисунков, 4 таблицы, 36 уравнений. Работа состоит из введения, обзора литературы по исследуемой тематике, описания применяемых методов, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Список литературы включает 183 источника, из которых 179 иностранные.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **главе 1** представлен обзор основных методов дистанционного мониторинга, основанные на анализе флуоресценции хлорофилла а, термографии, RGB изображений и отражённого света. Рассмотрены особенности этих методов и ограничения их применения. Более подробно рассмотрена оценка состояния растений с использованием индексов отражения, включая вегетационный, водные и пигментные индексы; особое внимание уделено фотохимическому индексу отражения.

В **главе 2** перечислены использованные в работе объекты исследований, показано использованное оборудование, описаны методики исследований и анализа данных, а также – описана математическая модель, использованная для анализа пространственной неоднородности фотосинтетических процессов в плоскости листа.

Различные варианты экспериментов проводили на 2-4-недельных проростках гороха (*Pisum sativum* L.), пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и/или тыквы (*Cucurbita pepo* L.). Растения выращивали в условиях 16/8 ч светового периода при температуре 24°C.

В работе исследовалось влияние системного (кратковременный водный дефицит, длительная почвенная засуха и температурный шок) и локального (локальный ожог, вызывающий распространение электрических сигналов по растению) действия стрессоров на спектральные характеристики отраженного света и параметры фотосинтеза у растений. Влияние интенсивности освещения было дополнительно проанализировано в отдельных блоках экспериментов.

Кратковременный водный дефицит (у растений, выращенных на песчаном субстрате) и длительную почвенную засуху (у растений, выращенных на почве) индуцировали прекращением полива, контрольные растения продолжали поливать каждые 2 дня. Относительное содержание воды в побегах оценивали стандартным методом на основе измерения их сырого и сухого веса; сухой вес определяли после двухчасового прогрева материала при 100°C. Температурный шок индуцировали нагревом растений при температуре 46.5°C в термостате TV-20-PZ-“К” (Касимовский приборный завод, Касимов, Россия) в течение 30 мин, измерения проводили через 1 ч и 1 сутки после нагрева.

Локальный ожог наносили открытым пламенем (2-3 с) на листовую пластинку первого зрелого листа проростков гороха (верхний сформировавшийся лист), что приводило к распространению по растению электрических сигналов. Измерение таких сигналов осуществляли экстраклеточно с помощью AgCl электродов (Гомельский приборный завод, Беларусь), высокоимпедансного усилителя (ИПЛ-113, Семико) и ПК. Электроды располагались на листовой пластинке второго и четвертого зрелого листа и на стебле вблизи их черешков. Электропроводящий гель Унигель (Гельтек-Медика, Россия) использовали для соединения электродов и растения в единую электрическую цепь. Электрод сравнения располагался в растворе, омывающем корни.

В первом блоке экспериментов спектральные характеристики отраженного света и стандартные параметры световой стадии фотосинтеза (квантовые выходы фотосистемы I и II (YI и YII), нефотохимическое тушение (NPQ), нециклический поток электронов (LEF) и другие) одновременно измеряли у фиксированных в пространстве листьев растений с использованием PAM флуориметра Dual-PAM (Heinz Walz GmbH, Германия) и спектрометра S100 (SOLAR Laser Systems, Беларусь), которые были объединены в общую измерительную систему. В качестве источника актиничного света выступала галогеновая лампа (белый свет) или стандартный красный актиничный свет флуориметра Dual-PAM-100. Источник измерительных импульсов желто-зеленого света представлял собой светодиодную лампу белого света TDS-P003L4U14 LED (TDS Lighting Co., Ltd., Китай), оснащенную жёлтым (Y-1,4x) и жёлто-зелёный (YG-2x) светофильтрами. 18% серый стандарт (QRcard 101 Calibration Card ver. 3, Argraph Corp., США) был использован для калибровки отраженного света и исключения влияния спектра источника освещения на величины измеренных индексов отражения.

В следующем блоке экспериментов измерения спектров отраженного света осуществляли на уровне растительного покрова, который был имитирован набором вегетационных сосудов с растениями. Для измерений была использована переносная гиперспектральная камера Specim IQ (Specim, Spectral Imaging Ltd, Финляндия), предназначенная для гиперспектрального имиджинга в условиях открытого и защищенного грунта. Для калибровки отраженного света использовали стандартную калибровочную панель системы.

Обработка полученных спектров отраженного света проводилась с помощью специально разработанных для этой задачи программных инструментов на языке программирования Python 3.8 с использованием библиотек spectral и numpy. Анализ результатов включал в себя как первичную обработку получаемых изображений (исключение фона у гиперспектральных изображений), так и последующий расчет всех возможных нормализованных индексов отражения, которые могут быть определены на основании измеренных спектров, оценку направления и статистической значимости их изменений при действии стрессоров, определение коэффициентов линейной корреляции Пирсона таких индексов и фотосинтетических параметров, а также построение тепловых карт, исследованных показателей. Разработанные программные инструменты позволяли также исследовать конкретные нормализованные индексы отражения. Индексы отражения для каждой возможной пары длин волн λ_1 и λ_2 ($RI(\lambda_1, \lambda_2)$) рассчитывали как $\frac{R_{\lambda_1} - R_{\lambda_2}}{R_{\lambda_1} + R_{\lambda_2}}$, где R_{λ_1} и R_{λ_2} — интенсивности отраженного света на соответствующих длинах волн при $\lambda_2 < \lambda_1$ (Рис. 1).

В отдельном блоке экспериментов была использована специализированная система для пространственного имиджинга фотохимического индекса отражения, разработанная совместно с ИПФ РАН. В экспериментах с такой системой, измерения пространственного распределения PRI осуществляли одновременно с измерениями пространственного распределения параметров световой стадии фотосинтеза, которые были выполнены с

использованием системы ПАМ имиджинга Open FluorCam FC 800-O/1010 (Photon Systems Instruments, Чехия).



Рис. 1. Спектр отражения листа (на примере гороха) и метод расчета нормализованных индексов отражения при комплексном исследовании индексов отражения.

При исследовании связи между изменениями фотохимического индекса отражения и сдвигами рН люмена были выполнены измерения light scattering на 535 нм (LS), которое определялось стандартным методом по светопропусканию листа на 535 нм; увеличение LS является показателем закисления люмена хлоропластов. Для решения этой задачи в единую систему были объединены спектрометр S100 и Dual-PAM-100, который был оснащен стандартным дополнительным эмиттер-детекторным модулем для измерения светорассеяния на 535 нм, состоящим из блоков Dual-EP515 и Dual-DP515 (Walz GmbH, Германия). Исследование связи между изменениями PRI и светорассеяния выполняли в условиях освещения интенсивным красным актиничным светом ($1036 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$) после темновой адаптации.

Для исследования пространственной неоднородности фотосинтетической активности была разработана двумерная модель распределения фотосинтетических процессов в плоскости листа, опирающаяся на классическую модель Farguhar-von Coermer-Berry. Каждый элемент модели учитывал участок апопласта и клетку (включая описание плазматической мембраны, цитоплазмы и хлоропласта). В отдельных элементах модели были также описаны устьица, через которые осуществлялся вход CO_2 из окружающей среды. Помимо поступления углекислого газа из окружающей среды, модель также описывала латеральный транспорт CO_2 между соседними элементами модели, трансмембранный транспорт углекислого газа через плазматическую мембрану и оболочки хлоропластов, поглощение CO_2 в ходе фотосинтетической ассимиляции и его выделение в ходе дыхания. Модель также описывала трансмембранный и латеральный транспорт протонов и ионов калия, опираясь на ранее разработанную модель ионного транспорта в клетке (Sukhov, Vodeneev, 2009; Sukhov et al., 2011; Sukhova et al., 2017). Уравнения модели решались численно, методом Эйлера. Для их решения была разработан программный инструмент на языке C++. Для верификации модели использовали данные фотосинтетической активности, полученные с использованием флуориметра Dual-PAM-100, системы ПАМ-имиджинга IMAGING-PAM M-Series MINI Version (Heinz Walz GmbH, Германия) и газоанализатора GFS-3000 (Heinz Walz GmbH, Германия).

В главе 3 описано комплексное исследование спектров отражения в видимом диапазоне (400-700 нм), в рамках которого оценивали изменения нормализованных индексов отражения при системном (водный дефицит, засуха, тепловой шок) и локальном (локальный ожог) действии на растения неблагоприятных факторов. Направление изменений и статистическая значимость различий между индексами отражения у растений в условиях

действия неблагоприятных факторов (опыт) и отсутствия такого действия (контроль) были представлены в виде тепловых карт. Было показано, что водный дефицит вызывал достоверные изменения значительного числа индексов отражения у листьев проростков гороха. Изменения начинали наблюдаться на ранних этапах нехватки воды; усиление такой нехватки приводило к увеличению спектральных областей, чувствительных к водному дефициту (Рис.2).

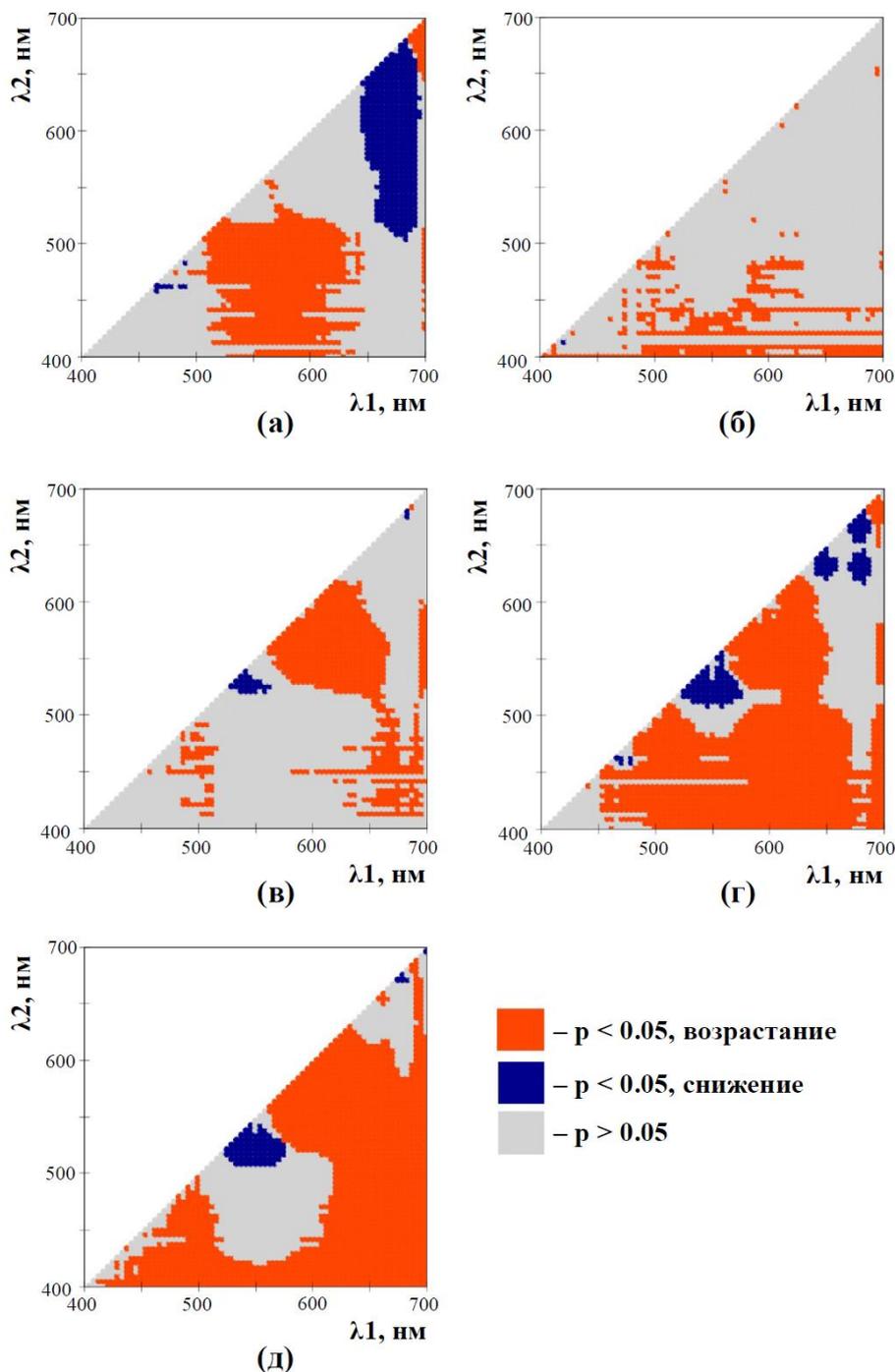


Рис. 2. Тепловые карты направления и статистической значимости различий индексов отражения в опыте (кратковременный водный дефицит) и контроле у растений гороха после 1 (а), 2 (б), 3 (в), 4 (г), 5 (д) суток отсутствия полива. По осям отложены длины волн (λ_1 и λ_2), на основе которых рассчитывали индексы отражения (см. Рис. 1). Синим отмечены достоверные снижения индексов в опыте по сравнению с контролем, красным – достоверные возрастания индексов отражения в опыте по сравнению с контролем. Достоверность различий оценивали на основе Манн-Уитни U-теста, $n=6$.

На основе тепловых карт достоверностей различия индексов в опыте и контроле было найдено 46 нормализованных индексов отражения (см. Таблицу 3.2 в Диссертации), показывающих наиболее ранние изменения при развитии водного дефицита (на первый или второй день). Корреляционный анализ показал сильную линейную связь таких индексов с максимальным квантовым выходом фотохимических реакций фотосистемы II и относительным содержанием воды в побегах растений.

Выявленные индексы являлись перспективными кандидатами на роль новых индексов отражения, чувствительных к неблагоприятным факторам (по крайней мере, к развитию водного дефицита); однако, их применимость требовала дальнейшего анализа, так как результаты были показаны только на одном растительном объекте (горох), при действии кратковременного водного дефицита и при измерениях фиксированных в пространстве листьев. В связи с этим, на следующем этапе было проведено исследование чувствительности выявленных индексов к влиянию длительной почвенной засухи на растения гороха и пшеницы; при этом, измерения осуществляли на модели растительного покрова (листья и растения не были зафиксированы в пространстве).

Было показано (Рис.3), что изменения нормализованных индексов RI(613, 605) и RI(670, 432) являлись наиболее чувствительными к развитию водного стресса. Возрастающие RI(613, 605) и RI(670, 432) наблюдалось как у пшеницы, так и у гороха, и начиналось на 4-8-й день почвенной засухи.

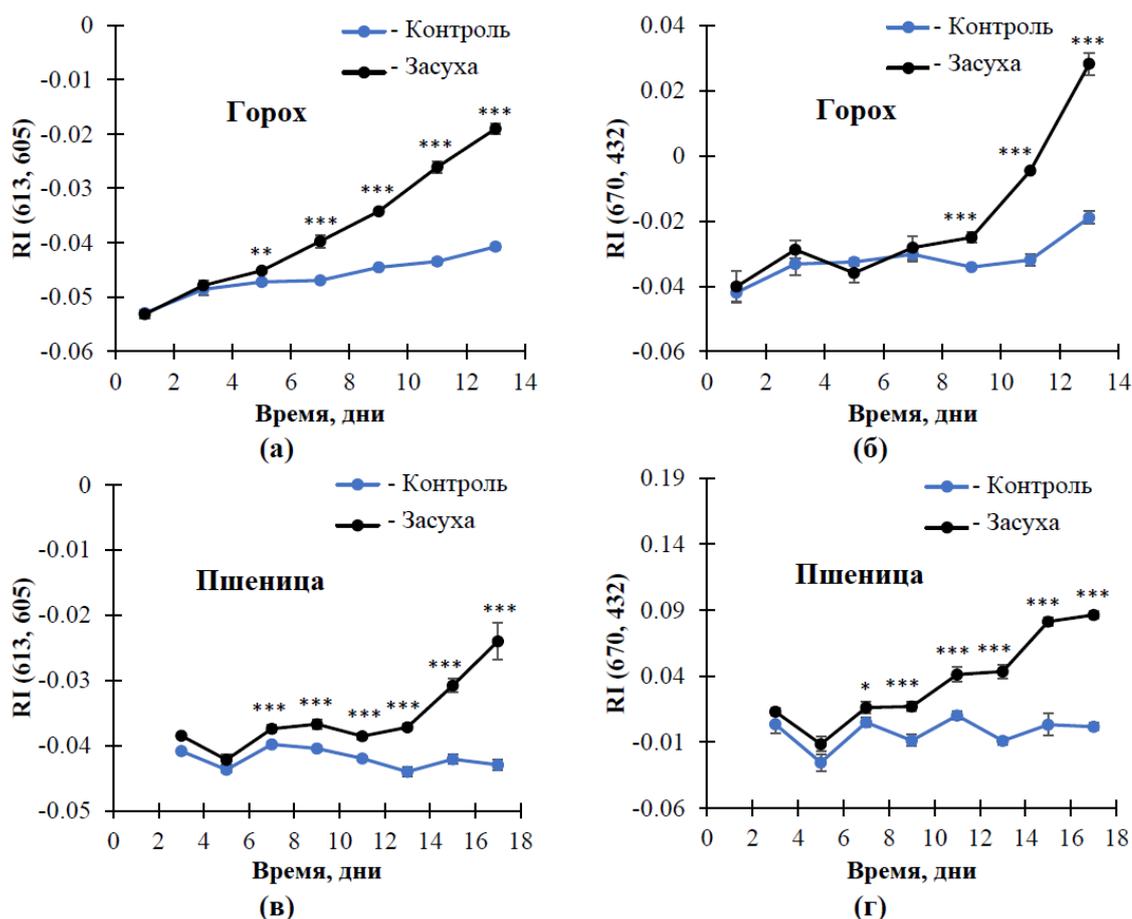


Рис.3. Динамика изменений выявленных нормализованных индексов отражения у гороха и пшеницы в условиях развития почвенной засухи ($n=45$). а – динамика RI(613, 605), рассчитанного на основании интенсивностей отраженного света на 613 и 605 нм, у гороха, б – динамика RI(670, 432), рассчитанного на основании интенсивностей отраженного света на 670 и 432 нм, у гороха, в – динамика RI(613, 605) у пшеницы, г – динамика RI(670, 432) у пшеницы.

Важно отметить, что эти индексы также были чувствительны к действию на растения кратковременного теплового шока (происходило их возрастание). Учитывая спектры поглощения основных фотосинтетических пигментов (Kume et al., 2018), было предположено, что изменения RI(613, 605) могут быть связаны с изменениями соотношения хлорофиллов а и b, а изменения RI(670, 432) – с изменениями соотношений хлорофиллов и каротиноидов. Известно (Liu et al., 2011; Vatra et al., 2014), что такие изменения являются одним из типичных ответов на действие неблагоприятных факторов.

Далее было проведено исследование изменений нормализованных индексов отражения в интактных частях растения (горох) при локальном ожоге первого зрелого листа (Рис.4).

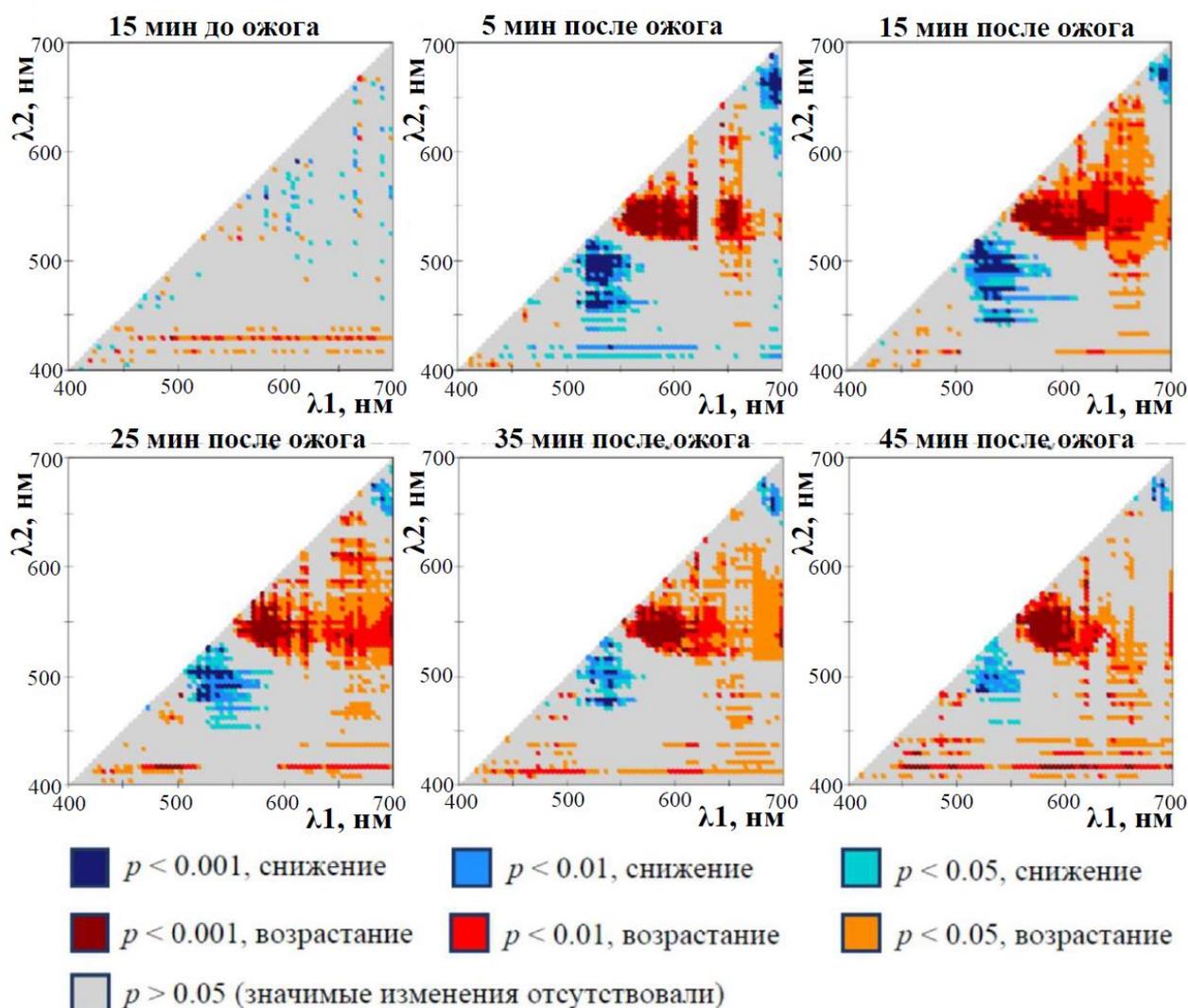


Рис.4. Динамика тепловых карт достоверности изменений индексов отражения во втором листе гороха при индукции электрических сигналов ожогом листовой пластинки первого сформировавшегося листа. По осям отложены длины волн (λ_1 и λ_2), на основе которых рассчитывали индексы отражения (см. Рис. 1 и 2). Синим отмечены достоверные снижения индексов по сравнению с контролем, красным – достоверные возрастания индексов отражения; в качестве контроля использовали индекса отражения за 5 минут до индукции ВП. Достоверность различий оценивали на основе Манн-Уитни U-теста, $n=13$.

Было показано, что ожог индуцировал распространение электрических сигналов, проходящие в неповрежденные зоны растения. Такие сигналы могли вызывать как положительные (например, при $\lambda_1 \sim 540\text{--}625$ нм и $\lambda_2 \sim 520\text{--}560$ нм), так и отрицательные

(например, при $\lambda_1 \sim 510\text{--}560$ нм и $\lambda_2 \sim 450\text{--}520$ нм) изменения индексов отражения во втором зрелом листе гороха. При этом выявленные изменения усиливались в течение 5–25 мин после индукции электрических сигналов, а затем снижались. Полученные результаты хорошо согласуются с влиянием электрических сигналов на фотосинтетические процессы (Gallé et al., 2015; Sukhov, 2016) и показывают возможность использования индексов отражения для выявления такого влияния.

Таким образом, были выявлены новые индексы отражения RI(613, 605) и RI(670, 432), которые показали эффективность для оценки стрессовых изменений у растений (по крайней мере, водного и теплового стресса) и могут быть использованы в дальнейшем для развития методов их дистанционного мониторинга. Кроме того, было показано, что электрические сигналы могут также вызывать изменения индексов отражения и показаны спектральные диапазоны таких изменений.

Одним из наиболее широко используемых и перспективных для дистанционного мониторинга индексов отражения является PRI. PRI рассчитывается по стандартной формуле (Рис. 1) на основании интенсивностей отраженного света на длине волны 531 нм, на которой наблюдается сильное поглощение света ксантофиллами, и длине волны 570 нм, на которой поглощение света ксантофиллами минимально (Zhang et al., 2016). PRI является, по-видимому, наиболее чувствительным к быстрым изменениям фотосинтетических процессов (Gamon et al., 1992, 1997; Evain et al., 2004; Garbulsky et al., 2011; Zhang et al., 2016); в то же время, малая величина изменений PRI и их зависимость от условий измерения и состояния растения требует развития подходов к его применению для оценки состояния растений. Вследствие этого, дальнейшие исследования были сосредоточены на анализе фотохимического индекса отражения.

В главе 4 описано исследование влияния условий измерений на эффективность применения PRI и анализ возможных механизмов его формирования. Мета-анализ литературных данных показал, что сила линейной связи между PRI и параметрами фотосинтетических процессов растений (максимальный квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II, нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла (NPQ), эффективность использования световой энергии для процесса фотосинтетической ассимиляции CO₂) может значительно варьировать при различных условиях измерения (см. Таблицу 4.1 в Диссертации). В частности, было выявлено, что коэффициенты корреляции Пирсона между PRI и фотосинтетическими параметрами возрастают при использовании искусственного освещения. Измерения PRI на уровне растительного покрова более эффективны для оценки максимального квантового выхода и NPQ; напротив, измерения фотохимического индекса отражения в отдельных листьях позволяют более точно оценивать эффективность использования световой энергии.

Полученные результаты показывают, что применение искусственного освещения может увеличить эффективность использования PRI. В ходе дальнейшего исследования, был предложен метод снижения влияния фонового освещения на результаты измерений PRI, который был основан на использовании импульсов желто-зеленого измерительного света (GYL). При этом, интенсивность отраженного света, которую использовали для расчета PRI, рассчитывали как разность интенсивности отраженного света фоне вспышки GYL и интенсивности отраженного света без такой вспышки (Рис. 5а). Было показано, что использование вспышек GYL устраняло влияние параметров фонового освещения на измерения отраженного света. В частности, при использовании красного актиничного света, увеличение его интенсивности вызывало значительные искажения при измерении общей интенсивности отраженного света на длине волны 570 нм; в то же время,

использование разности интенсивностей отраженного света в ходе вспышки GYL и без нее полностью устраняло такое влияние (Рис.5б).

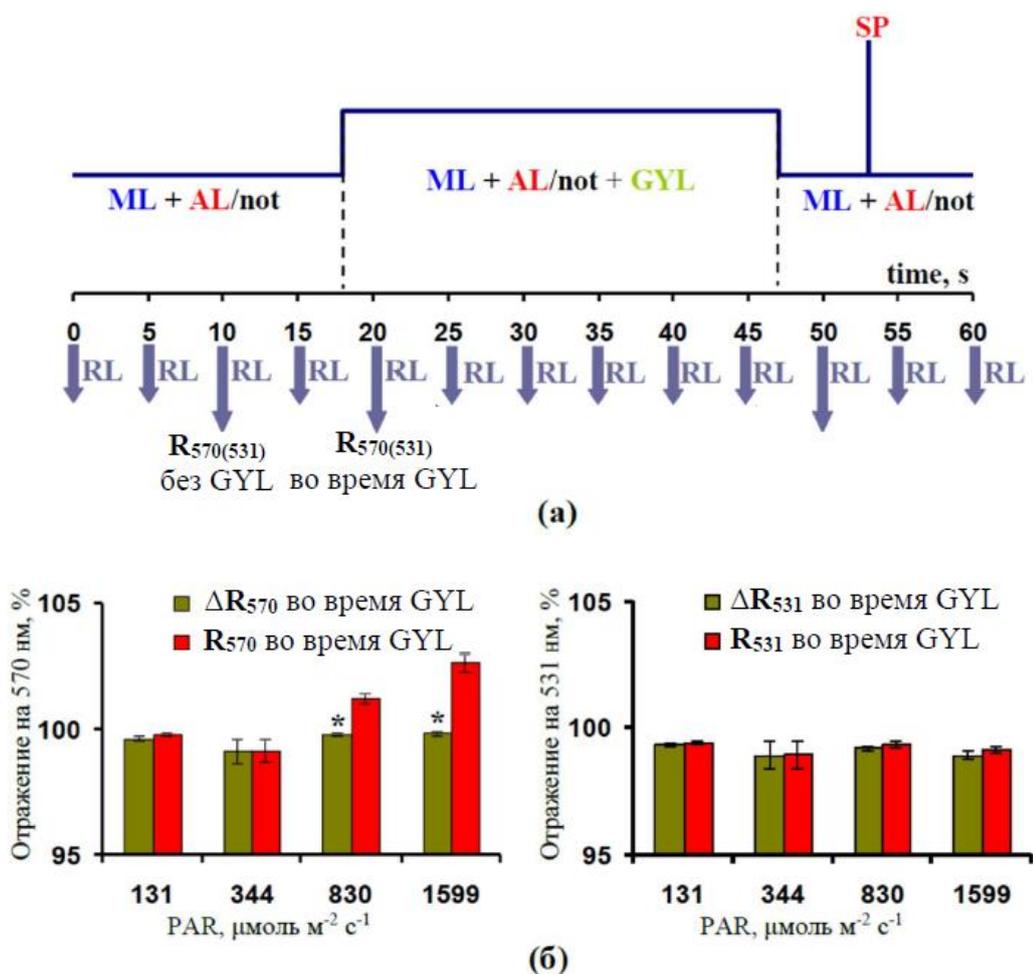


Рис.5. (а) Схема освещения растений импульсами желто-зеленого света (GYL). Импульсы GYL генерировались через 20 с после включения красного актиничного света. AL – красный актиничный свет (который может отсутствовать), ML – измерительный свет, SP – насыщающие вспышки; RL – отраженный свет; R_{570} и R_{531} – интенсивность отраженного света растениями на длинах волн 570 и 531 нм. (б) Интенсивность отраженного света на 570 и 531 нм в условиях освещения растений красным актиничным светом (PAR) у гороха ($n=6$). За 100% принимали отражение в условиях отсутствия красного актиничного света. ΔR_{570} и ΔR_{531} – разности интенсивностей отраженного света на 570 и 531 нм, соответственно, во время импульса GYL и без него. *, различия между R_{570} (R_{531}) и ΔR_{570} (ΔR_{531}) достоверны ($p < 0.05$).

Разработанный метод был использован для исследования влияния интенсивности освещения на PRI и его связь с быстро-релаксирующей компонентой нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ_F). Было показано, что увеличение интенсивности падающего на растения красного актиничного света приводило к одновременному возрастанию NPQ_F и снижению PRI и величины его светоиндуцированных изменений (ΔPRI) (Рис.6а). При этом несмотря на близкую динамику изменений PRI и ΔPRI , изменения последней величины имели существенно меньшую вариабельность. Анализ диаграмм рассеяния между индивидуальными показателями фотохимического индекса отражения и NPQ_F , рассчитанными для каждого растения, выявил сильную и статистически значимую линейную связь между ΔPRI и NPQ_F , в то время как аналогичная связь между

PRI и NPQ_F была слабой и не имела достоверного характера (Рис.6б). Этот результат хорошо согласуется с литературными данными, в которых показано, что ΔPRI обычно имеет более сильную связь с показателями активности фотосистемы II, чем его абсолютное значение (Soudani et al., 2014).

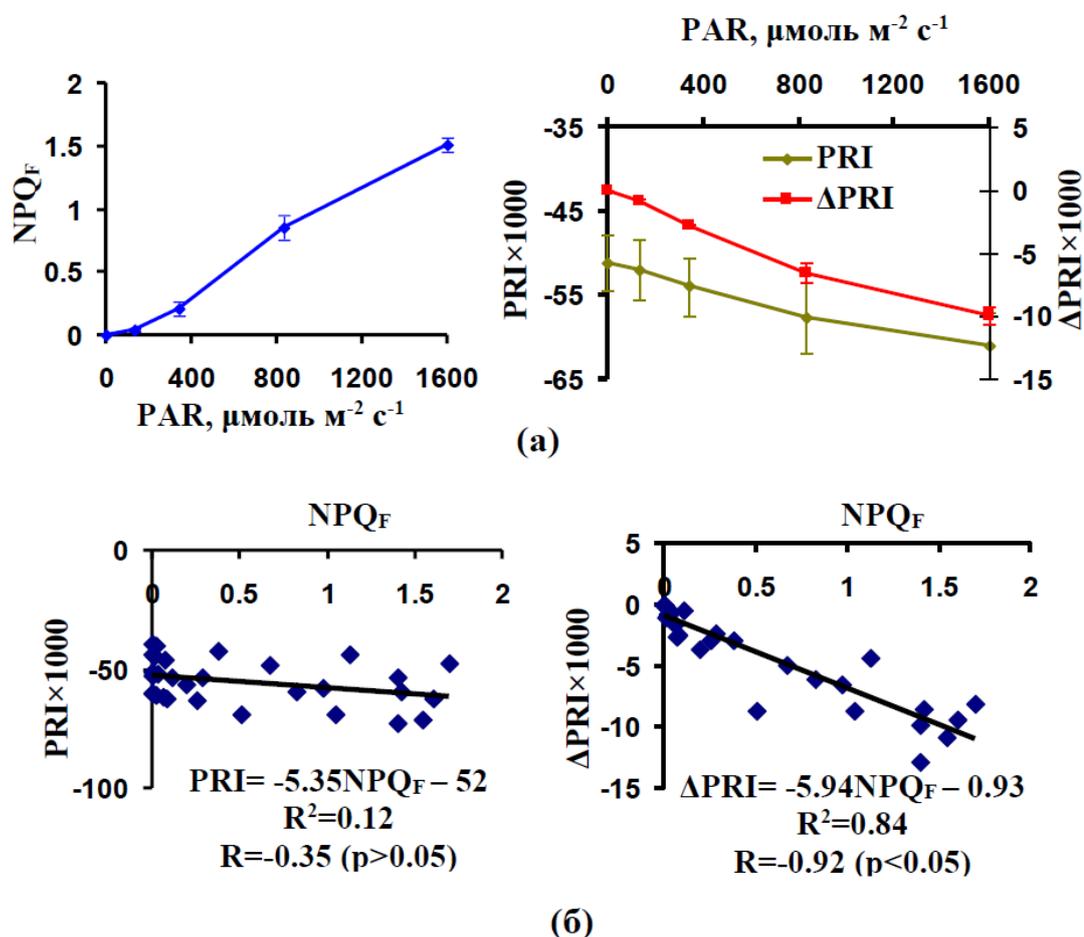


Рис.6. Световые кривые для быстро-релаксирующей компоненты нефотохимического тушения (NPQ_F), для фотохимического индекса отражения (PRI) и его светоиндуцированных изменений (ΔPRI) у гороха ($n=6$) (а), а также диаграммы рассеяния между NPQ_F и PRI (слева) и между NPQ_F и ΔPRI (справа) у гороха ($n=30$) (б). При построении диаграмм рассеяния каждая точка показывает индивидуальное растение.

Предложенный метод измерения PRI с использованием вспышек GYL был использован для разработки новой системы для проксимального имиджинга фотохимического индекса отражения, которая использовала короткие (от 18 мс) импульсы GYL для измерения фотохимического индекса отражения (алгоритм работы системы показан на Рис.4.4 в Диссертации). Разработанная система была апробирована в условиях действия на растения актиничного света различной интенсивности; результаты соответствовали результатам, полученным с использованием спектрометра, и подтверждали эффективность разработанной системы для измерения PRI (см. рис. Рис.4.7 и 4.8 в Диссертации).

Далее был проведен анализ механизмов развития изменений PRI в условиях освещения. Как было отмечено выше, изменения PRI могут быть связаны с активацией цикла ксантофиллов (Gamon et al., 1992, 1997; Garbulsky et al., 2011; Zhang et al., 2016), который играет важную роль в формировании быстро-релаксирующей компоненты нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла а (NPQ_F) (Ruban, 2016). Сильная линейная

связь между выявленными изменениями ΔPRI и NPQ_F (Рис.5б) подтверждает такую возможность. Однако, детализированный анализ связи изменений ΔPRI и LS , являющегося показателем рН люмена хлоропластов, выявил более сложную картину: усиление LS (Рис.7а), которое отражало возрастание закисления люмена хлоропластов, и уменьшение ΔPRI (Рис.7б) имели сильную линейную связь в пределах первых двух минут после начала освещения (Рис.7в); однако, на дальнейшем временном интервале такая связь практически полностью отсутствовала (Рис.7г).

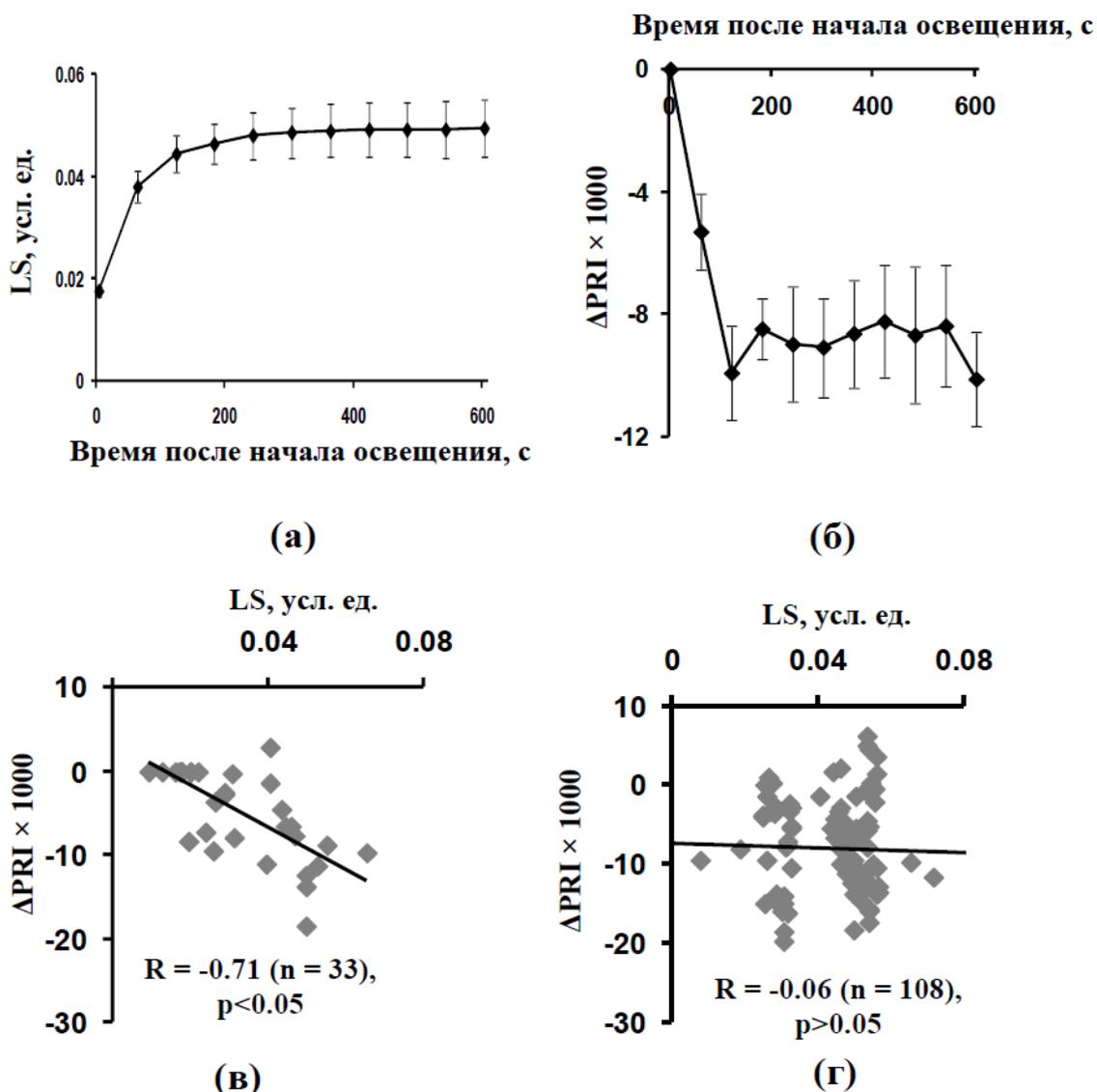


Рис.7. Динамики изменений LS (а) и ΔPRI (б) у гороха при включении света (0 с). ($n=11$) и диаграммы рассеяния между ΔPRI и величиной LS на временных интервалах с 0-й по 2-ю минуту ($n=33$) (в) и с 3-й по 10-ю минуту освещения растений ($n=108$) (г).

Полученные результаты показывают, что изменения рН влияют на величину PRI в ограниченном временном диапазоне (первые две минуты). Известно, что времена развития изменений в цикле ксантофиллов составляют более 10 мин (Bilger et al., 1989; Jahns, 1995; Kress, Jahns, 2017); т.е. превращение виолоксантина в зеаксантин не является, по-видимому, основным механизмом быстрых изменений PRI в этом блоке экспериментов. Такой результат показывает существование дополнительного механизма формирования быстрых изменений фотохимического индекса отражения (не связанного с циклом ксантофиллов) и согласуется с гипотезой об участии рН-зависимого сжатия хлоропластов в формировании таких изменений (Evain et al., 2004); изменения могут быть также связаны

с рН-зависимой агрегацией светособирающих комплексов, которые приводят к изменениям поглощения света с максимумом на 535 нм (Ruban, 2016).

Изменения рН люмена хлоропластов, тесно связанные с изменениями фотосинтетических процессов (Müller et al., 2001; Бухов, 2004; Ruban, 2016); являются важным ответом растений на изменение интенсивности света или действие неблагоприятных факторов; однако, подтверждение существования различных механизмов быстрых изменений PRI ставит вопрос о том, можно ли повлиять на соотношение таких механизмов и повысить эффективность применения фотохимического индекса отражения? Согласно данным литературы (Gamon et al., 1997), соотношение различных механизмов изменений отражения может зависеть от длины волны измерительного света; т.е. можно ожидать, что модифицированные PRI, у которых такая длина волны сдвинута, могут быть более или менее эффективны для выявления фотосинтетических изменений.

Вследствие этого, далее был проведен анализ модифицированных фотохимических индексов, у которых измерительная длина волны (531 нм) была заменена на 515, 525, 535, 545 и 555 нм; референсная длина волны не менялась (570 нм). Анализ проводился в условиях варьирования интенсивности освещения (красный актиничный свет). Было показано, что более «коротковолновые» индексы PRI(515, 570) и PRI(525, 570) были слабо связаны с параметрами фотосинтеза, в то время как более «длинноволновые» индексы PRI(535, 570), PRI(545, 570) и PRI(555, 570) имели сильную связь с большинством параметров фотосистемы I и II (Рис.8а, б; Рис.4.15 в Диссертации). Следует отметить, что связь между квантовым выходом потерь световой энергии, обусловленных акцепторной стороной фотосистемы I (YNA), и всеми исследованными модифицированными PRI была низкой; это может быть обусловлено инактивацией ферредоксин-НАДФ редуктазы в темноте и ее медленной реактивацией на свету (Benz et al., 2010; Mulo, 2011).

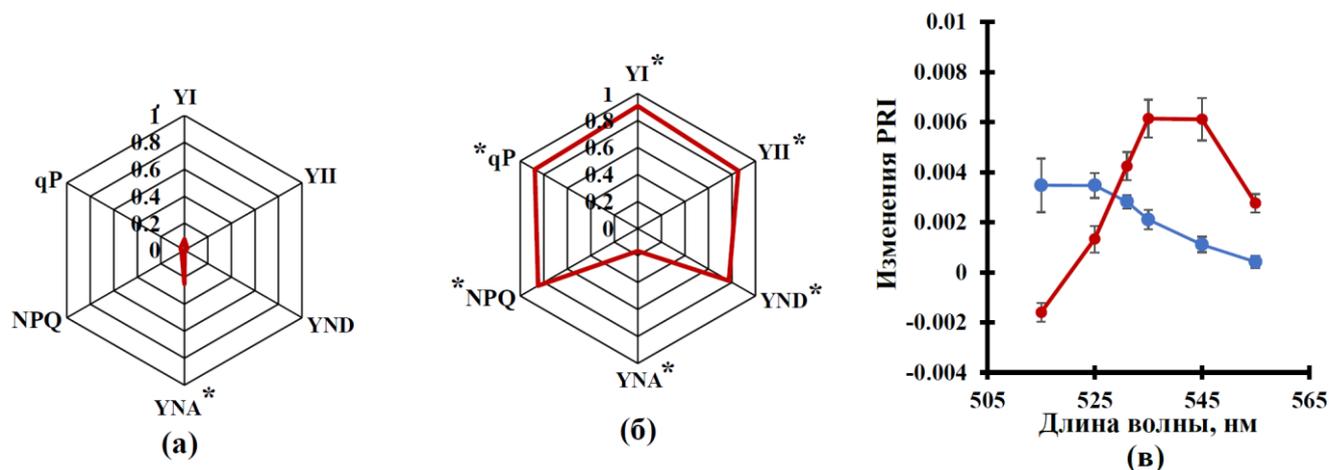


Рис.8. Коэффициенты линейной детерминации R^2 между параметрами активности фотосинтеза и индексам отражения $\Delta PRI(515, 570)$ (а) и $\Delta PRI(555, 570)$ (б); зависимость быстро- (красным) и медленно-релаксирующей (синим) компонент от основной длины волны модифицированных индексов отражения при освещении гороха красным актиничным светом интенсивностью $1599 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$ (в) ($n=6$). YI – эффективный квантовый выход фотосистемы I; YII – эффективный квантовый выход фотосистемы II; YND – фракция реакционных центров I, которые не были окислены из-за ограничения на донорной стороне; YNA – фракция реакционных центров I, которые не были окислены из-за ограничения на акцепторной стороне; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла а; qP– коэффициент фотохимического тушения. *, линейная корреляция между величинами имеет статистически значимый характер ($p<0.05$).

Учитывая данные литературы (Gamon et al., 1997; Evain et al., 2004), можно предполагать, что изменения «коротковолновых» PRI скорее связаны с более медленными переходами в цикле ксантофиллов, а изменения «длинноволновых» PRI – с быстрым сжатием хлоропластов. Поэтому, далее был проведен релаксационный анализ модифицированных PRI, который показал, что PRI(535, 570), PRI(545, 570) и PRI(555, 570) преимущественно включают в себя быстро-релаксирующую компоненту изменений (релаксация происходила в пределах двух минут после выключения освещения) (Рис.8в). Это означает, что изменения «длинноволновых» модифицированных PRI действительно обусловлены сжатием хлоропластов при закислении их люмена. Изменения PRI(515, 570) и PRI(525, 570) были связаны, прежде всего, с медленно-релаксирующей компонентой (релаксация в пределах двух минут отсутствовала), что подтверждает участие перехода виолоксантина в зеаксантин в цикле ксантофиллов в формировании таких изменений. При этом, изменения типичного PRI были связаны с обеими компонентами приблизительно в равной степени.

Выявленные различия вклада быстро- и медленно-релаксирующей компоненты изменений для модифицированных фотохимических индексов отражения со сдвинутыми измерительными длинами волн (и различия потенциальных механизмов) могут быть использованы для повышения эффективности применения PRI в мониторинге состояния растений и обеспечения более точной оценки особенностей влияния неблагоприятных факторов на растения.

Описанные результаты были получены при варьировании интенсивности освещения растений; однако, большое практическое значение является анализ эффективности использования PRI в условиях действия других абиотических факторов. Вследствие этого, далее было проведено исследование связи фотосинтетической активности со светоиндуцированными Δ PRI при системном (водный дефицит и нагревание растения) и локальном (ожог листа) действии неблагоприятных факторов.

Было показано, что в условиях водного дефицита NPQ_F возрастало, а Δ PRI снижался; между этими показателями наблюдалась сильная и статистически значимая линейная связь (Рис.9), что хорошо соответствовало результатам, полученным при варьировании интенсивности освещения. Потенциально, возрастание NPQ_F , повлекшее снижение Δ PRI, может быть связано с закрытием устьиц при действии неблагоприятных факторов и снижением ассимиляции CO_2 . Сходные результаты были получены при нагревании растений (см. Рис.4.19 и 4.20 в Диссертации).

Локальный ожог первого зрелого листа гороха индуцировал распространение электрических сигналов и тем самым вызывал изменения фотосинтетических параметров и PRI в интактных частях растения; амплитуды электрических сигналов и изменений исследованных параметров снижались при увеличении расстояния от зоны ожога (Рис.10а-в). При этом, между Δ PRI и параметрами фотосинтеза наблюдалась сильная линейная связь (Рис.10г-е), что хорошо соответствовало результатам, полученным при исследовании системного действия неблагоприятных факторов.

Таким образом, системное и локальное действие неблагоприятных факторов, вызывающее изменение фотосинтетических показателей, вызывает также изменения амплитуды Δ PRI, что открывает возможности для использования Δ PRI для мониторинга ответов растения при таком действии. По-видимому, именно связанные с действием неблагоприятных факторов сдвиги рН люмена хлоропластов являются основным механизмом как изменений фотосинтетических процессов, так и изменений PRI.

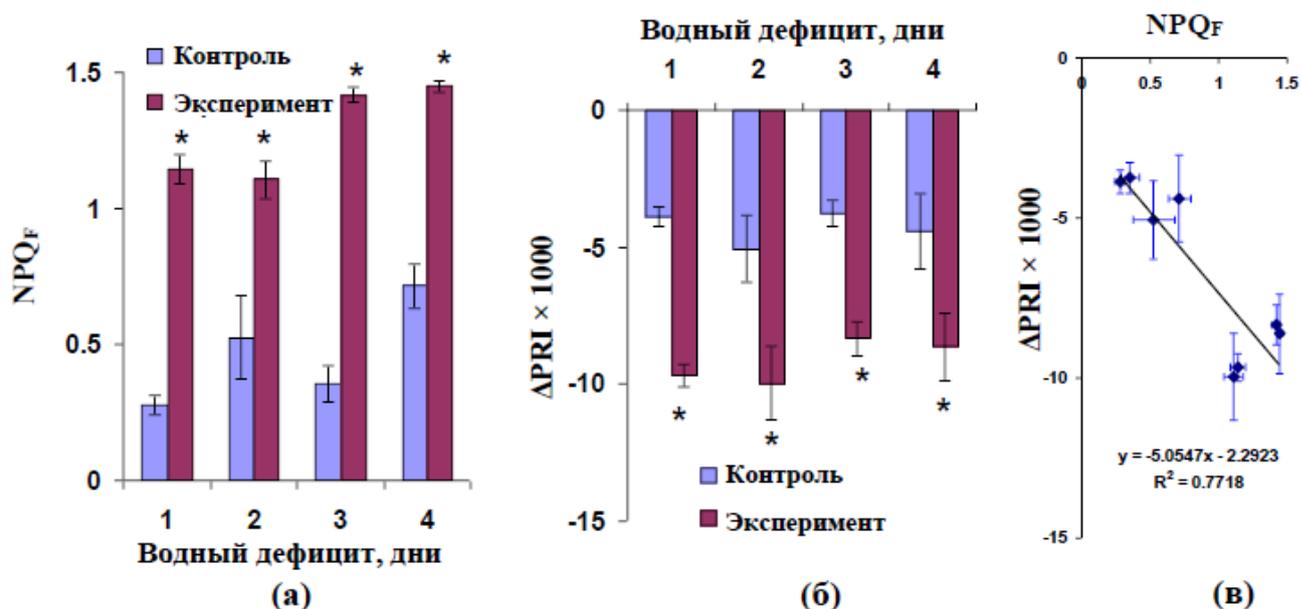


Рис.9. Динамика изменений энергозависимой компоненты нефотохимического тушения (NPQ_F) (а) и светоиндуцированных изменений фотохимического индекса отражения (ΔPRI) (б) в условиях кратковременного водного дефицита у гороха ($n=12$), а также диаграммы рассеяния между NPQ_F и ΔPRI ($n=8$) (в). *, $p < 0.05$.

В главе 5 был проведен экспериментальный и теоретический анализ пространственной неоднородности распределения фотосинтетических параметров и фотохимического индекса отражения в пределах листа растения. При этом неоднородность свойств растений может быть вызвана неоднородностью действия неблагоприятных факторов на растительный организм, а также – регулярными и стохастическими различиями в активности фотосинтетических процессов, содержания пигментов, азота и др. между различными частями растения, что может влиять на оптические свойства растений, включая PRI. Неоднородность пространственного распределения фотосинтетических параметров и PRI может быть потенциально интересна для мониторинга растений в качестве дополнительного критерия действия абиотических факторов на растительный организм.

Прежде всего, было экспериментально выявлено, что пространственная неоднородность распределения фотохимического индекса отражения по поверхности листа, которую оценивали по величине стандартного отклонения индекса ($SD(PRI)$), усиливалось при развитии кратковременного водного дефицита (Рис.11а). Неоднородность статистически значимо возрастала на второй день воздействия; в дальнейшем, возрастание $SD(PRI)$ увеличивалось. Было предположено, что индуцированное водным дефицитом увеличение неоднородности пространственного распределения PRI в листе может быть связано с увеличением неоднородности пространственного распределения фотосинтетических процессов. Для проверки этого предположения было исследовано пространственное распределение нециклического потока электронов через фотосинтетическую электрон-транспортную цепь, которое оценивали по коэффициенту вариации LEF ($CV(LEF)$); коэффициент вариации был использован для устранения влияния абсолютной величины и размерности LEF на результат. Было показано (Рис.11б), что $CV(LEF)$ действительно возрастал в условиях водного дефицита, что соответствовало изменениям $SD(PRI)$.

Экспериментальный анализ показывает, что стрессовое воздействие (кратковременный водный дефицит) вызывает возрастание неоднородности фотосинтетических процессов и, как следствие, неоднородности распределения PRI; последнее может быть использовано в качестве критерия при развитии методов мониторинга растений.

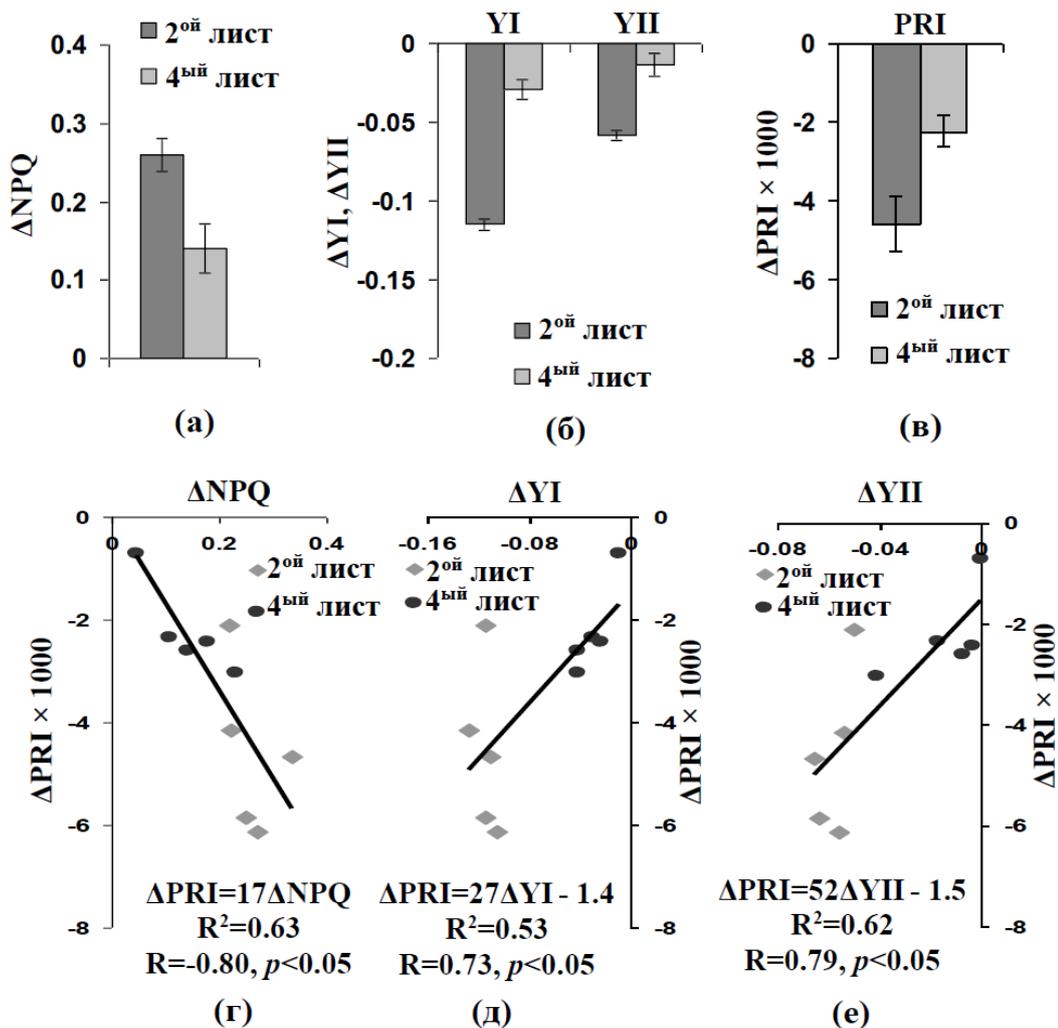


Рис. 10. Амплитуды изменений нефотохимического тушения (NPQ) (а), квантового выхода фотосистем I и II (YI и YII) (б), фотохимического индекса отражения (в) во 2-м и 4-м листьях гороха, вызванные индукцией электрического сигнала ($n=5$); диаграммы рассеяния между ΔPRI и ΔNPQ (г); ΔPRI и ΔYI (д); ΔPRI и ΔYII (е) ($n=10$).*, $p < 0.05$

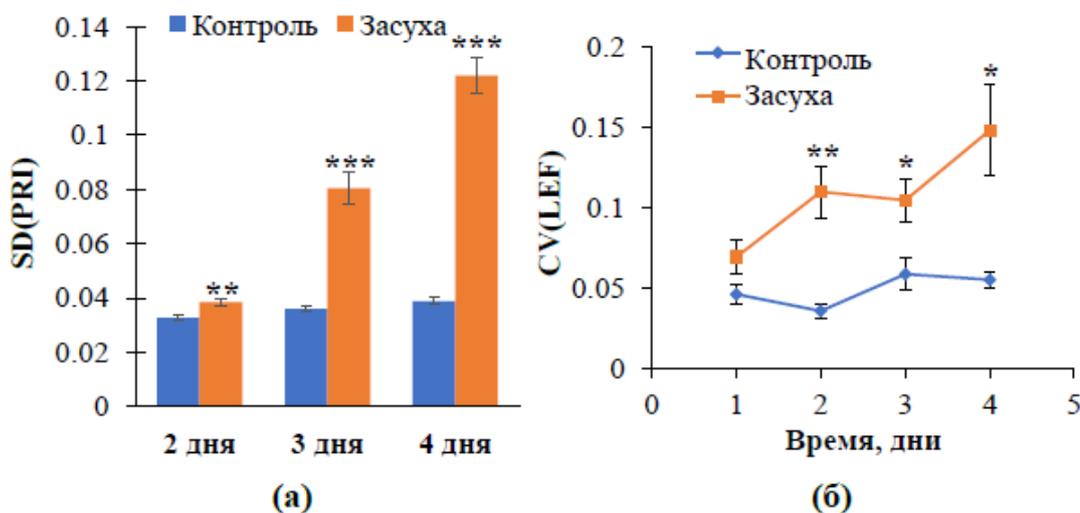


Рис.11. Динамика стандартного отклонения PRI (SD(PRI)) ($n=50$) (а) и коэффициента вариации нециклического потока электронов (CV(LEF)) ($n=6$) (б) при развитии засухи на примере гороха. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$. Параметры рассчитаны для пространственного распределения параметров.

Одним из факторов, влияющим на пространственную неоднородность активности фотосинтеза, может быть неоднородность доступности углекислого газа, что, в свою очередь, может определяться плотностью и открытостью устьиц листа. Учитывая закрытие устьиц при действии ряда неблагоприятных факторов (прежде всего, засухи) (Kim et al., 2009; Christmann et al., 2013), можно ожидать, что изменение состояния устьиц может стимулировать пространственную неоднородность в условиях водного дефицита.

Для проверки этой гипотезы была разработана двумерная математическая модель пространственного распределения фотосинтетических параметров по поверхности листа, включающая описание транспорта ионов и углекислого газа по листу, регуляцию такого транспорта, ассимиляцию углекислого газа в процессе фотосинтеза и его выделение в ходе дыхания, изменение концентрации АТФ и ряд других процессов (Рис.12). Верификация модели показала ее хорошее соответствие экспериментальным результатам (см. Рис.5.3 и 5.4 в Диссертации).

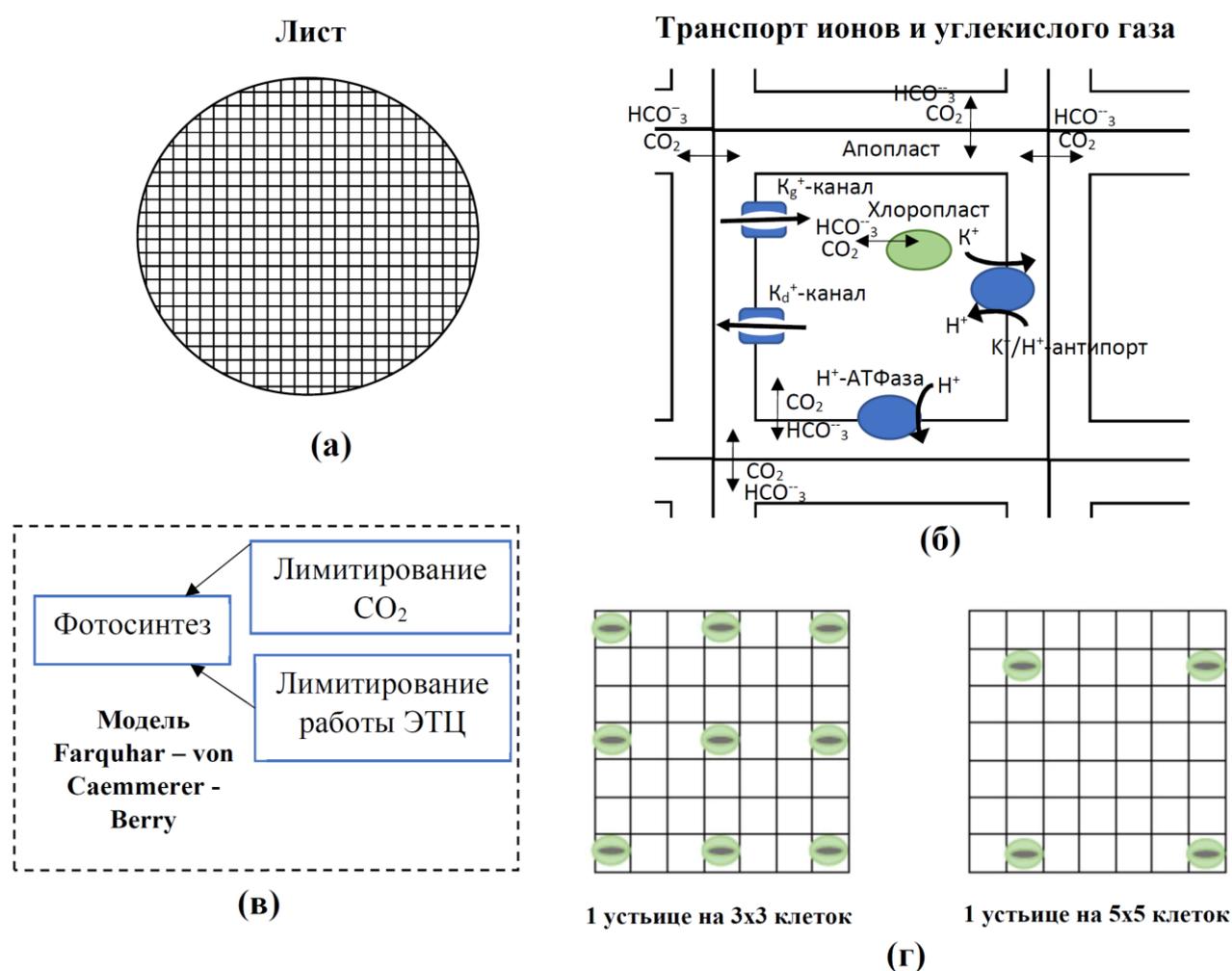


Рис.12. Схема математической модели, включающая (а) двумерный плоский лист, (б) транспорт ионов и углекислого газа по компартаментам, (в) модель ассимиляции углекислого газа на основе модели Farquhar – von Caemmerer – Berry (Farquhar et al., 1980; von Caemmerer et al., 2009) и (г) рассматриваемые с помощью модели варианты плотности распределения устьиц по листу.

Было показано, что имитированные моделью зависимости коэффициента вариации ассимиляции $CV(A_{hv})$ от интенсивности света имели вид кривой насыщения (Рис.12а). При этом, для вариантов с средними проводимостями листа для CO_2 равными 0.064 и

0.023 моль м⁻² с⁻¹ в условиях неизменной плотности устьиц (1 устьица на 9 клеток) световые кривые CV(A_{hv}) различались слабо; однако, уменьшение средней проводимости вызывало небольшое возрастание неоднородности в условиях умеренной интенсивности освещения. С другой стороны, уменьшение плотности устьиц (до 1 устьица на 25 клеток), которое соответствует закрытию части устьиц и снижению средней проводимости листа для углекислого газа, приводило к резкому возрастанию CV(A_{hv}) в условиях увеличения освещения (Рис.13а). Таким образом, модель показывает увеличение пространственной вариабельности фотосинтетической активности при снижении проводимости (закрытии устьиц) и/или возрастании интенсивности освещения.

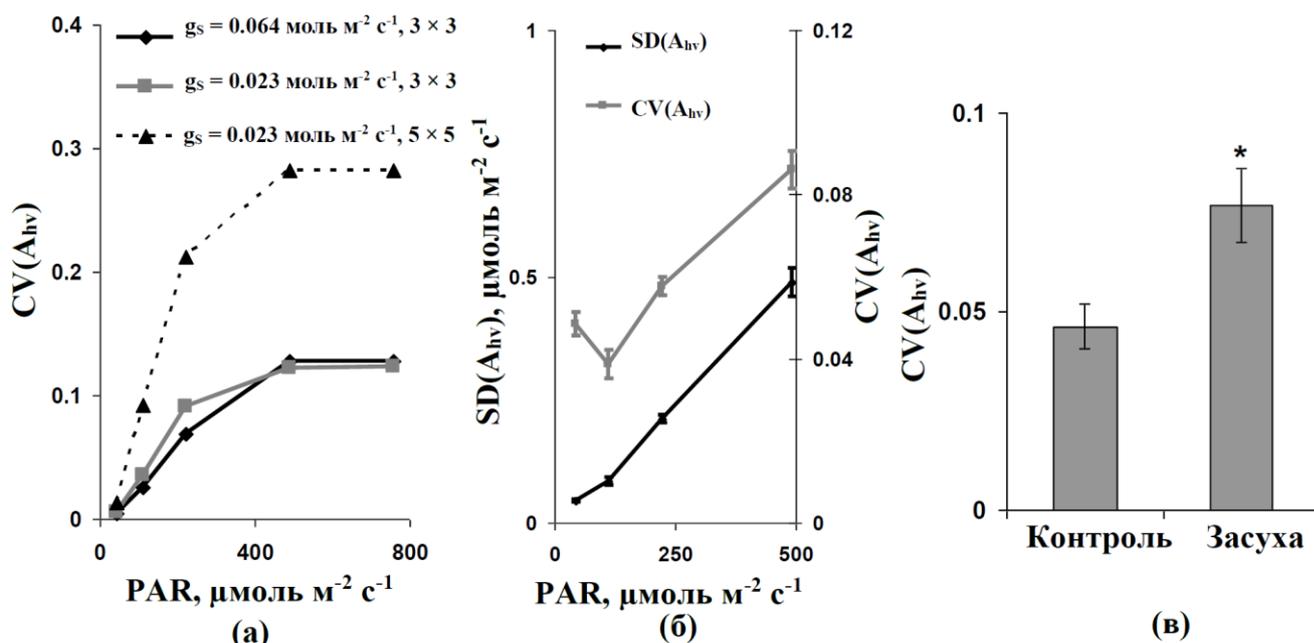


Рис.13. (а) Световая зависимость коэффициента вариации ассимиляции (CV(A_{hv})). A_{hv} симулировали при средней проводимости листа для CO₂ (g_s) равной 0.023 и 0.064 моль м⁻² с⁻¹. 3x3 – плотность устьиц была 1 устьица на 9 клеток; 5x5 – плотность устьиц была 1 устьица на 25 клеток. (б) Зависимости параметров пространственной неоднородности A_{hv} (SD(A_{hv}) и CV(A_{hv})) от интенсивности света (n=6). (в) Влияние засухи (1 день) на CV(A_{hv}) (n=6). *, p < 0.05.

Далее была проведена экспериментальная проверка результатов моделирования. Учитывая, что непосредственное измерение пространственного распределения фотосинтетической ассимиляции CO₂ по листу было ограничено техническими возможностями, для оценки такого распределения использовали пространственное распределение LEF, для которого возможен имиджинг в масштабе листа. При этом было показано, что между фотосинтетической ассимиляцией CO₂ и нециклическим потоком электронов через электрон-транспортную цепь хлоропластов при интенсивности света не более 500 μmol m⁻² с⁻¹ наблюдалась линейная связь (см. Рис.5.6а в Диссертации); при дальнейшем увеличении интенсивности начинало развиваться насыщение. Полученное калибровочное линейное уравнение было использовано для оценки пространственного распределения активности ассимиляции CO₂ в листе и оценки ее неоднородности.

Было показано, что световые кривые SD(A_{hv}) и CV(A_{hv}), показывающие стандартное отклонение и коэффициент вариации фотосинтетической ассимиляции CO₂ были качественно и количественно сходны с аналогичными кривыми, симулированными моделью (Рис.13а, б). Дополнительный анализ показал, что в условиях водного дефицита

пространственная неоднородность распределения интенсивности ассимиляции углекислого газа ($CV(A_{hv})$) усиливалась, что также соответствует результатами моделирования.

Полученные результаты показывают возможность использования пространственной неоднородности PRI для выявления действия неблагоприятных абиотических факторов на растения. Также они подтверждают возможную роль закрытия устьиц и, как следствие изменений потоков CO_2 внутрь листа в выявленном эффекте.

ВЫВОДЫ

1. На основании комплексного исследования изменений нормализованных индексов отражения (диапазон видимого света) при кратковременном водном дефиците, почвенной засухе и действии повышенной температуры, предложены два новых индекса отражения (RI(613, 605) и RI(670, 432)), которые могут быть использованы как дополнительный инструмент для выявления системного действия неблагоприятных абиотических факторов на растения. Также показано, что локальные ожоги и индуцированные ими электрические сигналы вызывают быстрые изменения ряда индексов отражения, рассчитываемых на основании спектральных диапазонов 540–625 нм и 520–560 нм, а также диапазонов 510–560 нм и 450–520 нм.

2. Показано, что фотохимический индекс отражения меняется при системном и локальном действии абиотических факторов (водный дефицит, повышенные температуры, локальный ожог); при этом выраженность изменений и сила их связи с показателями фотосинтеза может существенно варьировать в различных экспериментальных условиях. Для повышения эффективности использования PRI был предложен ряд подходов, включая разработку нового метода измерения индекса с использованием вспышек желто-зеленого измерительного света, использование светоиндуцированных изменений PRI и использование модифицированных фотохимических индексов отражения, имеющих измененную измерительную длину волны.

3. Показано, что быстрые изменения фотохимического индекса отражения включают в себя быстро-релаксирующую и медленно-релаксирующую компоненты, имеющие различные спектральные максимумы и разную силу связи с показателями фотосинтетических процессов; при этом, подтверждено, что изменения PRI связаны с закислением люмена хлоропластов.

4. Показано, что действие неблагоприятных факторов (в частности, водного дефицита) вызывает возрастание неоднородности пространственного распределения величины PRI в плоскости листа, которая может быть использована в качестве показателя действия неблагоприятных факторов на растения. Экспериментальное и теоретическое исследование показало, что такая неоднородность связана с усилением неоднородности нециклического потока электронов вследствие закрытия устьиц листа.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК

1. **Sukhova E.**, Sukhov V. Connection of the photochemical reflectance index (PRI) with the photosystem II quantum yield and nonphotochemical quenching can be dependent on variations of photosynthetic parameters among investigated plants: a meta-analysis // *Remote Sens.* 2018. V. 10. Article 771. (IF 5.349, Q1 (SJR))
2. Sukhov V., **Sukhova E.**, Vodeneev V. Long-distance electrical signals as a link between the local action of stressors and the systemic physiological responses in higher plants // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2019. V. 146. P. 63-84. (IF 4.799, Q1 (SJR))
3. Sukhov V., **Sukhova E.**, Gromova E., Surova L., Nerush V., Vodeneev V. The electrical signal-induced systemic photosynthetic response is accompanied by changes in the photochemical reflectance index in pea // *Func. Plant Biol.* 2019. V. 46. P. 328-338. (IF 2.81, Q1 (SJR))
4. Сухов В.С., Громова Е.Н., **Сухова Е.М.**, Сурова Л.М., Неруш В.Н., Воденеев В.А. Анализ связи показателей световой стадии фотосинтеза с фотохимическим индексом отражения (PRI) в условиях кратковременного освещения листа гороха // *Биологические мембраны.* 2019. Т. 36. С. 32–43. (Q4 (SJR))
5. **Сухова Е.М.**, Юдина Л.М., Воденеев В.А., Сухов В.С. Анализ связи изменений фотохимического индекса отражения (PRI) и закисления люмена хлоропластов листьев гороха и герани в условиях кратковременного освещения // *Биологические мембраны.* 2019. Т. 36. С. 218–228. (Q4 (SJR))
6. **Sukhova E.**, Sukhov V. Analysis of light-induced changes in the photochemical reflectance index (PRI) in leaves of pea, wheat, and pumpkin using pulses of green-yellow measuring light // *Remote Sens.* 2019. V. 11. Article 810. (IF 5.349, Q1 (SJR))
7. Yudina L., **Sukhova E.**, Gromova E., Nerush V., Vodeneev V., Sukhov V. A light-induced decrease in the photochemical reflectance index (PRI) can be used to estimate the energy-dependent component of non-photochemical quenching under heat stress and soil drought in pea, wheat, and pumpkin // *Photosynth. Res.* 2020. V. 146. P. 175–187. (IF 3.429, Q1 (SJR))
8. **Sukhova E.**, Sukhov V. Relation of photochemical reflectance indices based on different wavelengths to the parameters of light reactions in photosystems I and II in pea plants // *Remote Sens.* 2020. V. 12. Article 1312. (IF 5.349, Q1 (SJR))
9. **Sukhova E.**, Yudina L., Gromova E., Ryabkova A., Kior D., Sukhov V. Complex analysis of the efficiency of difference reflectance indices on basis of 400-700 nm wavelengths for revealing the influences of drought and heating on plant seedlings // *Remote Sens.* 2021. V. 13. Article 962. (IF 5.349, Q1 (SJR))
10. **Sukhova E.**, Sukhov V. Electrical signals, plant tolerance to actions of stressors, and programmed cell death: is interaction possible? // *Plants.* 2021. V. 10. Article 1704. (IF 4.658, Q1 (SJR))
11. **Sukhova E.**, Yudina L., Gromova E., Ryabkova A., Vodeneev V., Sukhov V. Influence of local burning on difference reflectance indices based on 400–700 nm wavelengths in leaves of pea seedlings // *Plants.* 2021. V. 10. Article 878. (IF 4.658, Q1 (SJR))
12. Sukhov V., **Sukhova E.**, Khlopkov A., Yudina L., Ryabkova A., Telnykh A., Sergeeva E., Vodeneev V., Turchin I. Proximal imaging of changes in photochemical reflectance index in leaves based on using pulses of green-yellow light // *Remote Sens.* 2021. V. 13. Article 1762. (IF 5.349, Q1 (SJR))
13. **Sukhova E.**, Ratnitsyna D., Sukhov V. Stochastic spatial heterogeneity in activities of H⁺-ATP-ases in electrically connected plant cells decreases threshold for cooling-induced electrical responses // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. Article 8254. (IF 6.34, Q1 (SJR))

14. **Sukhova E.**, Kior D., Kior A., Yudina L., Zolin Y., Gromova E., Sukhov V. New normalized difference reflectance indices for estimation of soil drought influence on pea and wheat // *Remote Sens.* 2022. V. 14. Article 1731. (IF 5.349, Q1 (SJR))

Патент

15. Сухов В.С., **Сухова Е.М.**, Воденеев В.А., Юдина Л.М., Турчин И.В., Тельных А.А., Сергеева Е.А., Воробьев В.А. Система для измерения фотохимического индекса отражения PRI у растений. Патент № 2 746 690 С1.

Публикации в других изданиях, тезисы докладов

16. **Sukhova E.**, Nerush V., Sukhov V. A photochemical reflecting index as perspective method for remote monitoring of plant photosynthesis under changeable conditions: meta-analysis of literature data // 8th international conference photosynthesis and hydrogen energy research for sustainability-2017. 2017. P. 188.
17. **Сухова Е.М.**, Сухов В.С. Влияние переменного потенциала на поглощение энергии фотосистемой II и поток электронов через фотосинтетический аппарат листа гороха // VIII Съезд Российского фотобиологического общества. Всероссийская конференция «Современные проблемы фотобиологии». 2017. С. 50.
18. **Сухова Е.**, Рябкова А., Юдина Л., Громова Е., Сухов В. Использование индексов отражения в видимом диапазоне света для оценки и прогнозирования изменения активности фотосинтеза высших растений при действии стрессоров // IX Съезд Российского фотобиологического общества. Всероссийская конференция «Современные проблемы фотобиологии». 2021. С. 68.