

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИСТЬЕВ БОБОВ *VICIA FABA* L., ОБРАБОТАННЫХ СКФ-ЭКСТРАКТАМИ *REYNOUTRIA SACHALINENSIS*

¹С. А. Глазунова, ¹В. А. Караваев, ²О. И. Покровский, ²О. О. Паренаго, ¹М. К. Солнцев, ¹М. С. Тишкин, ³Л. Э. Гунар

¹Физический факультет Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова, Россия

²Институт общей и неорганической химии им. Н. С. Курнакова, Москва, Россия

³Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К. А. Тимирязева,
Москва, Россия

Поступила в редакцию 16.02.2009 г.

Методами измерения медленной индукции флуоресценции (МИФ) и термолюминесценции (ТЛ) исследовано влияние сверхкритических флюидных (СКФ) экстрактов горца сахалинского *Reynoutria sachalinensis* на фотосинтетическую активность листьев бобов *Vicia faba* L. Обработка экстрактами приводила к повышению фотосинтетической активности растений, причем максимальный стимулирующий эффект наблюдался для экстракта, полученного с использованием диоксида углерода, содержащего 2 % этанола в качестве соразтворителя. Предполагается, что стимулирующее действие СКФ-экстрактов связано с увеличением пула переносчиков электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи за счет поступления в клетки листа соединений хиноновой природы.

Ключевые слова: сверхкритическая флюидная экстракция, *Reynoutria sachalinensis*, медленная индукция флуоресценции, термолюминесценция.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых экологически чистых препаратов для сельскохозяйственного производства, которые могли бы заменить химические средства защиты растений, является актуальной задачей современной «зеленой» химии. Ранее было показано, что водный экстракт горца сахалинского *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai и спиртовой препарат Milsana[®], приготовленный на основе этого растительного сырья, эффективно защищают сельскохозяйственные растения от фитопатогенных грибов [1, 2]. Горец сахалинский в естественных условиях произрастает на юге Сахалина, Курильских островах, в Японии, а также широко распространен в средней полосе России и Западной Европе. Механизм действия экстрактов *R. sachalinensis* предположительно связан с усилением естественных защитных реакций растений на заражение (индуцированная устойчивость) [3]. Обработка растений этими препаратами приводит к увеличению содержания в листьях пероксидазы, полифенолоксидазы (способствуют выведению свободных радикалов и пероксидов, возникающих при облучении и других неблагоприятных внешних воздействиях) и хитиназы (участвует в гидролизе соединений, входящих в клеточные стенки бактерий) [4]. В случае заражения у обработанных этими препаратами растений стимулируется синтез фитоалексинов

[5], обладающих антибактериальным, фунгитоксическим и антинематодным действием [6]. При этом также повышается фотосинтетическая активность [7], подавляется рост патогенов и дезактивируются их экзоферменты [6].

Вместе с тем, имеются данные о различиях в действии водного и спиртового экстрактов *R. sachalinensis* [8]. Так, предполагается [9], что спирт, присутствующий в препарате Milsana®, при больших нормах расхода может оказывать негативное влияние на защищаемую культуру и, в частности, на фотосинтетический аппарат растений. В связи с этим представляет интерес сравнение физиологической активности экстрактов, полученных различными методами, в том числе и с помощью сверхкритической флюидной экстракции.

Цель данной работы — сравнение стимулирующих эффектов от воздействия на листья бобов *Vicia faba* L. СКФ-экстрактов *R. sachalinensis* с эффектами от воздействия ее водного экстракта и спиртового препарата Milsana® на основании данных, полученных методами медленной индукции флуоресценции (МИФ) и термолюминесценции (ТЛ). Люминесцентные методы все более широко применяются для изучения структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата и оценки эффективности отдельных стадий фотосинтетического процесса [10, 11]. Метод медленной индукции флуоресценции основан на исследовании флуоресценции хлорофилла при освещении листьев, адаптированных к темноте, светом средней интенсивности. Возможность применения метода МИФ к изучению физиологического состояния растений обоснована в работе [12], где теоретически и экспериментально установлена высокая положительная корреляция между относительным тушением флуоресценции листьев в индукционном периоде и их фотосинтетической активностью. Ранее этот метод был успешно применен для изучения изменений, происходящих в фотосинтетическом аппарате растений при их обработке физиологически активными веществами: гербицидами, фунгицидами, антиоксидантами и различными растительными экстрактами [12—14].

Термолюминесценция фотосинтезирующих объектов наблюдается при нагреве образцов (листья, суспензии хлоропластов), предварительно освещенных при более низких температурах. Согласно общепринятым представлениям (см., например, [15]), это излучение возникает в результате обращения первичных реакций фотосинтеза вследствие рекомбинации зарядов, разделенных при освещении и стабилизированных при более низких температурах. Ранее метод ТЛ неоднократно использовался для оценки функциональной активности фотосинтетического аппарата растений, обработанных различными физиологически активными веществами [16—18].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Проростки бобов *Vicia faba* L., сорт «Русские черные», выращивали в лабораторных условиях, в пакетах с землей объемом около 0,5 л. Водные и СКФ-экстракты получали из листьев горца сахалинского, произрастающего в средней полосе России. Для приготовления водного экстракта листья горца высушивали и измельчали, а непосредственно перед экспериментом заливали дистиллированной водой при 50 °С, 100 мл воды на 2 г сухих листьев. Суспензию перемешивали в течение часа и фильтровали.

СКФ-экстракты получали на лабораторной установке SFE-1000M1-2-FMC50 производства Thar Instruments, Inc. /США/ (рис. 1); блок-схема установки пред-



Рис. 1. Система сверхкритической флюидной экстракции SFE-100M1-2-FMC50 производства Thar Instruments, Inc. (США)

ставлена на рис. 2. Данная система позволяет проводить экстракцию с использованием диоксида углерода в качестве основного компонента сверхкритического флюида и различных органических растворителей в качестве модификаторов. Система оснащена циркуляционным термостатом, позволяющим охлаждать головки насоса и подаваемый в систему жидкий диоксид углерода для предотвращения его испарения. Двухходовые поршневые насосы высокого давления, снабженные сапфировыми стержнями, входными и выходными картриджами с односторонними шариковыми клапанами, механическими манометрами и предохранительными разрывными дисками, способны подавать флюид под давлением до 650 бар на скорости до 200 г/мин.

Блок контроля потока флюида состоит из двух приборов. Газо-жидкостный двусторонний расходомер Кориолиса позволяет измерять скорость подачи флюида в систему. Расходомер соединен с электронным управляющим устройством, которое контролирует скорость потока флюида и управляет скоростью хода поршней насосов. Данный блок может также служить средством контроля плотности входящего жидкого диоксида углерода. С помощью предварительного нагревающего теплообменника жидкий флюид доводится до рабочей температуры непосредственно перед подачей в экстракционный сосуд. Нагревающие рубашки позволяют поддерживать постоянную температуру как экстракционного сосуда, так и сборника фракций. Единая система термоконтроля позволяет поддерживать нужные температуры всех блоков в интервале от 0 до 120 °С с точностью 1 °С. Экст-

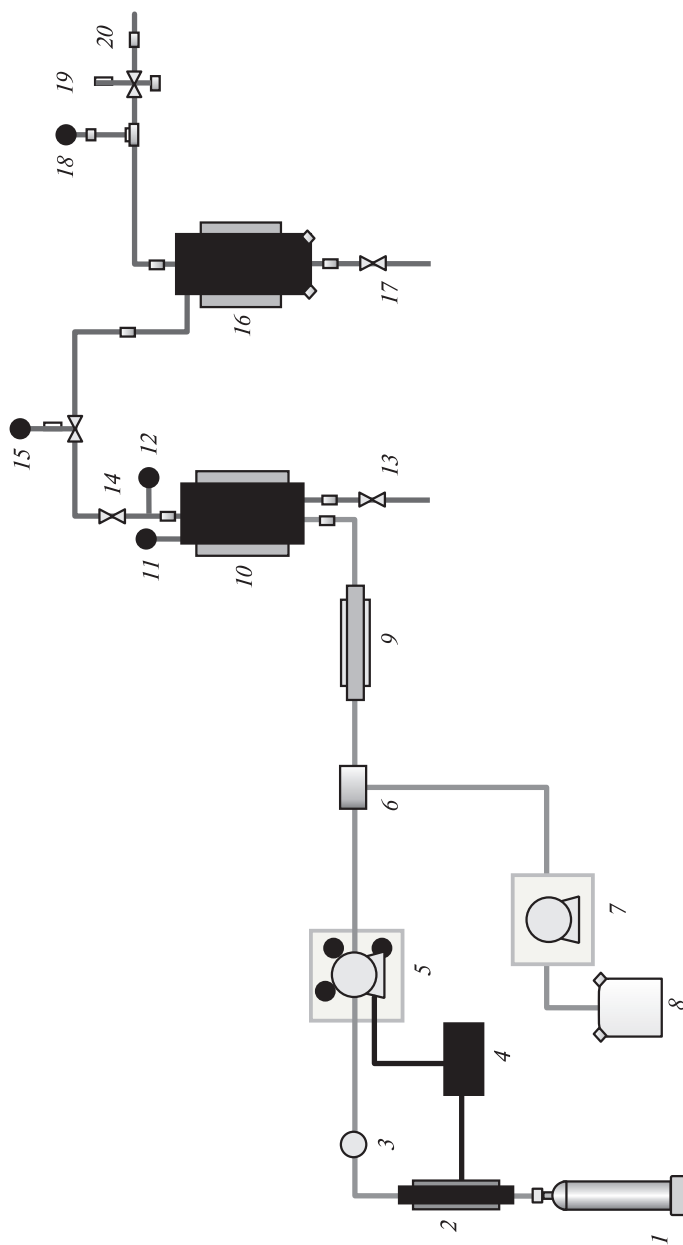


Рис. 2. Блок-схема сверхкритического флюидного экстрактора:

1 — баллон CO_2 ; 2 — охлаждающий теплообменник; 3 — блок контроля потока; 4 — охлаждающая баня; 5 — насос CO_2 ; 6 — статический миксер; 7 — насос соразмерителя; 8 — емкость с соразмерителем; 9 — предварительный нагреватель; 10 — экстракционный сосуд с нагревающей рубашкой; 11 — манометр; 12 — датчик температуры; 13 — клапан для сброса давления экстракционного сосуда; 14 — выходной клапан; 15 — автоматический регулятор противодавления; 16 — сборник фракций с нагревательной рубашкой; 17 — клапан для сброса давления сборника фракций; 18 — манометр; 19 — ручной регулятор противодавления; 20 — сброс

рационный сосуд, сборник фракций, а также все переходные металлические соединения и узлы изготовлены из нержавеющей стали марки 316 SS. Экстракционный сосуд объемом 200 мл снабжен входным и выходным керамическими фильтрами (размер пор 5 микрон) во избежание попадания частиц сырья в сборник фракций. Герметизация сосуда для поддержания высокого давления осуществляется с помощью полиимидной прокладки, снабженной внутренней армирующей пружиной, уплотняющейся во внутреннему конусу при закручивании крышки сосуда. Контроль давления в экстракционной системе в сверхкритических условиях осуществляется с помощью автоматического игольчатого клапана обратного давления, позволяющего поддерживать постоянное давление в интервале от 0 до 650 бар.

Экстракцию проводили следующим образом. Прежде всего запускали охлаждающую систему 4 и загружали 30 г измельченного сырья в экстракционный сосуд. Затем герметизировали 200-миллилитровый сосуд 10, открывали клапан 14 и подавали диоксид углерода в систему. Выставив значения всех рабочих параметров, включали нагрев теплообменников 9, 10 и 16 и после приближения их температур к заданным рабочим параметрам запускали систему. При этом одновременно включаются насос CO_2 5 и насос соразвителя 7, блок контроля потока 3, автоматический регулятор противодавления 15. После набора рабочего давления ручным регулятором противодавления 19 устанавливали необходимое давление в сборнике фракций. В ходе работы системы контроль и поддержание всех рабочих параметров осуществляется программно. Подача CO_2 насосом 5 контролируется с помощью блока контроля потока, температуры всех термостатируемых блоков измеряются встроенными термопарами. Через определенное время насосы останавливали, выключали нагрев блоков 9 и 10, перекрывали клапан 14 и с помощью клапана 17 отбирали накопленный экстракт, после чего сбрасывали давление в системе с помощью автоматического регулятора противодавления 15.

Экстракцию горца сахалинского вели в следующих условиях: давление 450 бар, температура предварительного нагревателя 55 °С, температура экстракционного сосуда 50 °С, температура сборника фракций 30 °С, скорость потока 50 г/мин. Элюирование проводили в течение 60 мин. СКФ-экстракты получали с использованием либо чистого CO_2 в качестве элюента, либо CO_2 с 10 % этанола и 2 % этанола в качестве соразвителя. Перед обработкой растений соответствующие СКФ-экстракты разводили в 100 мл воды для получения 2 %-го раствора.

Помимо водного и СКФ-экстрактов, в работе использовали спиртовой препарат Milsana®, приготовленный на основе горца сахалинского. Препарат разводили в дистиллированной воде для получения 0,5 %-го раствора.

Выпаривание растворов СКФ-экстрактов и препарата Milsana® показывает, что общее содержание в них сухого остатка примерно одинаково для различных исходных экстрактов и составляет около 10^{-4} %.

Двухнедельные проростки бобов опрыскивали свежеприготовленными препаратами до полного смачивания (покрытие поверхности листа тонким слоем жидкости до начала падения капель); контрольные растения опрыскивали дистиллированной водой. Все измерения производили на 2-й и 9-й день после обработки.

Для измерения индукции флуоресценции листья бобов отделяли от стебля, помещали в держатель, который находился в цилиндрическом корпусе с двумя окнами, расположенными под углом 90°, и адаптировали к темноте в течение 5 мин. Затем производили облучение образца и регистрацию флуоресценции. Об-

разцы располагали под углом $\sim 45^\circ$ к потоку возбуждающего света. Флуоресценцию возбуждали синим светом с шириной полосы ~ 50 нм и интенсивностью ~ 50 Вт/м², а регистрировали на длине волны 686 нм, соответствующей максимуму в спектре флуоресценции зеленого листа. В качестве параметра МИФ использовали отношение $(F_M - F_T)/F_T$, где F_M — интенсивность флуоресценции в максимуме индукционной кривой, F_T — стационарный уровень флуоресценции. Ранее было показано, что относительные изменения этого показателя соответствуют относительным изменениям фотосинтетической активности в расчете на хлорофилл [12, 14].

Для измерения термолюминесценции высечку из листа бобов помещали в держатель и в течение одной минуты освещали красным светом ($\lambda = 725$ нм) при комнатной температуре (для стандартизации условий эксперимента). После этого образец быстро охлаждали до -30°C и при этой температуре в течение трех минут освещали белым светом. Затем лист охлаждали до -100°C и после этого нагревали до 100°C со средней скоростью ~ 30 град/мин. В процессе нагрева регистрировали суммарную интенсивность излучения во всем диапазоне длин волн.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характерные кривые МИФ контрольных и обработанных СКФ-экстрактами *R. sachalinensis* листьев бобов представлены на рис. 3, а относительные изменения показателя $(F_M - F_T)/F_T$ МИФ — в таблице.

Эксперименты по измерению медленной индукции флуоресценции листьев бобов, обработанных экстрактами *R. sachalinensis*, неоднократно повторяли в разное время года и в различных вариантах обработки растений. При этом абсолютные значения отношения $(F_M - F_T)/F_T$ для контрольных растений разных

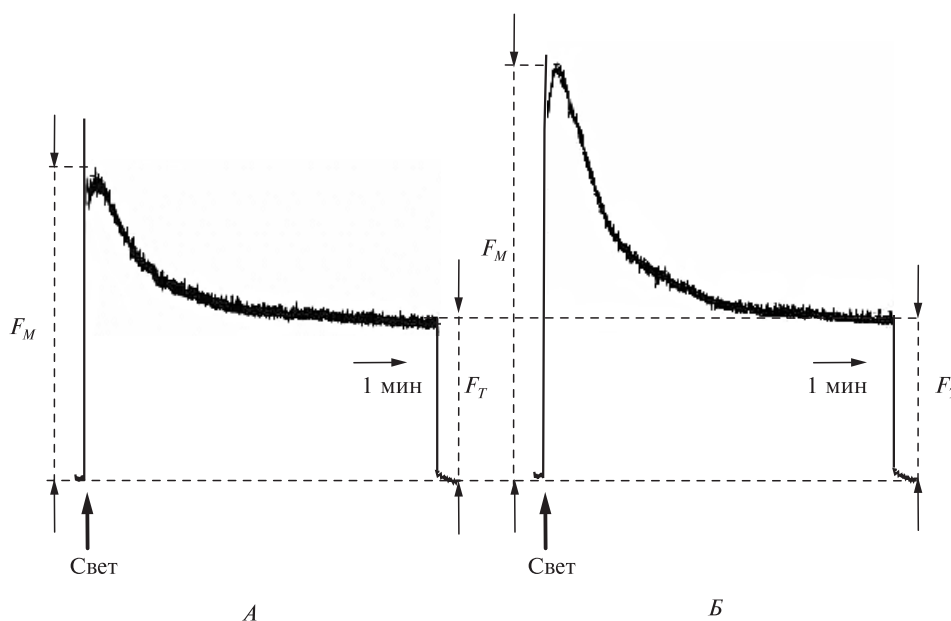


Рис. 3. Характерные кривые медленной индукции флуоресценции листьев бобов контрольных растений (А) и растений, обработанных СКФ-экстрактом *Reynoutria sachalinensis* (Б)

Таблица

Изменения значений $(F_M - F_T)/F_T$ медленной индукции флуоресценции листьев бобов после их обработки экстрактами *Reynoutria sachalinensis* и препаратом Milsana®

Вариант обработки	Срок отбора после обработки	
	2-й день	9-й день
Контроль (H ₂ O)	100 %	100 %
СКФ-экстракт <i>R. sachalinensis</i> (CO ₂ + 10 % C ₂ H ₅ OH)	120 %	118 %
СКФ-экстракт <i>R. sachalinensis</i> (CO ₂ + 2 % C ₂ H ₅ OH)	137 %	132 %
СКФ-экстракт <i>R. sachalinensis</i> (CO ₂)	123 %	111 %
Водный экстракт <i>R. sachalinensis</i>	125 %	106 %
Препарат Milsana®	85 %	124 %

посадок изменялись в достаточно широком диапазоне от 0,4 до 0,9. Вместе с тем, относительные изменения этого показателя в различных вариантах обработки бобов экстрактами достоверно воспроизводились в нескольких сериях экспериментов, проведенных на растениях разных посадок.

Согласно общепринятым представлениям [10, 19], высокие значения интенсивности флуоресценции в первые секунды освещения связаны с восстановлением первичного акцептора электронов фотосистемы 2 (ФС2). В последующий период начинают работать регуляторные механизмы, обеспечивающие оптимальное функционирование системы фотосинтетических реакций, и флуоресценция уменьшается. Тушение флуоресценции на стадии $F_M \rightarrow F_T$ обычно подразделяют на фотохимическое и нефотохимическое. Первое связано с окислением первичного акцептора электронов (Q_A) ФС2, второе — с рядом процессов, не связанных напрямую с окислительно-восстановительным состоянием Q_A . Из них основными являются (1) образование градиента протонов на мембране тилакоидов и (2) перераспределение энергии возбуждения в пользу ФС1 за счет латеральной миграции части светособирающих комплексов в ту область хлоропласта, где концентрируются комплексы ФС1 [10, 19].

Согласно результатам наших измерений обработка проростков бобов всеми видами СКФ-экстрактов приводила к существенному увеличению значений $(F_M - F_T)/F_T$ МИФ по сравнению с контролем (см. таблицу), что прямо свидетельствует о повышении фотосинтетической активности растений. В данном случае это увеличение может быть связано с ускорением электронного транспорта за счет поступления в клетки листа соединений хиноновой природы, которые могли бы служить дополнительными акцепторами электронов на восстановительной стороне ФС2 [7]. Следует отметить, что увеличение отношения $(F_M - F_T)/F_T$ во всех экспериментах было обусловлено возрастанием значений F_M по сравнению с F_T (рис. 3). В условиях достаточно интенсивного возбуждающего света, использовавшегося в наших опытах, вклад фотохимического тушения флуоресценции в ее изменение на участке $F_M - F_T$ невелик. Следовательно, увеличение значений $(F_M - F_T)/F_T$ после обработки растений СКФ-экстрактами следует интерпретировать как частичное «снятие» нефотохимического тушения за счет, например, более активного синтеза АТФ в первые секунды освещения и как следствие — уменьшения градиента протонов ΔpH на мембране тилакоидов. Ускорение про-

цесса фотофосфорилирования, в свою очередь, может быть связано с более быстрым освобождением АДФ и неорганического фосфата в ходе темновых метаболических реакций. Другой возможной причиной увеличения F_M может быть более интенсивная релаксация процессов, ответственных за тушение флуоресценции, в течение 5-минутной темновой адаптации, предшествовавшей регистрации МИФ (снижение градиента протонов на мембране, перемещение светособирающих комплексов в гранальную область тилакоидов и соответствующее увеличение «антенны» ФС2 и др.).

Максимальное увеличение показателя $(F_M - F_T)/F_T$ МИФ (на 32—37 % по сравнению с контролем) было отмечено в варианте обработки СКФ-экстрактом, полученным с использованием 2 % этанола в качестве соразтворителя. Было также отмечено, что растения этого варианта выглядели более крепкими и были более устойчивы к обезвоживанию. Помимо очевидного различия в составе экстрактов при варьировании состава экстрагента, можно предположить, что этанол в небольших количествах способствовал эффективному проникновению физиологически активных веществ, содержащихся в экстракте *R. sachalinensis*, внутрь хлоропласта и тем самым усиливал их стимулирующее действие на фотосинтетический аппарат. Вместе с тем, повышение концентрации спирта при СКФ-экстракции приводило к относительному ослаблению стимулирующего действия экстракта (см. таблицу).

Увеличение значений $(F_M - F_T)/F_T$ (повышение фотосинтетической активности) наблюдалось также при использовании водного экстракта *R. sachalinensis*, однако его стимулирующее действие было не таким продолжительным, как действии СКФ-экстракта. Так, на девятый день после обработки проростков водным экстрактом значения $(F_M - F_T)/F_T$ практически не отличались от контрольных значений (см. таблицу). По сравнению с препаратом Milsana[®], изготовленным на основе *R. sachalinensis*, значительное стимулирующее действие СКФ-экстрактов развивалось уже в первые дни после обработки растений.

Проведение экспериментов по термолюминесценции (ТЛ) со всеми видами СКФ-экстрактов одновременно, к сожалению, было невозможным. Эти исследования проводились в разное время года. В силу значительной биологической вариабельности кривых ТЛ и высокой чувствительности растений к внешним факторам (время года, погодные условия, время суток) контрольные кривые, полученные для растений, не прошедших обработку экстрактами, сильно отличались друг от друга, что можно видеть на рис. 4 А—В. Тем не менее, обнаруженные и описанные нами закономерности в изменении кривых ТЛ при обработке растений хорошо воспроизводились при многократных измерениях на разных растениях каждой посадки в отдельности. Кривые, приведенные на рис. 4 А—В, являются усреднением по 4—5 растениям, причем относительные различия внутри каждой группы измерений незначительны.

При анализе кривых ТЛ фотосинтезирующих объектов обычно выделяют три температурных интервала [15]: от –40 до 0 °С (так называемая полоса А); от 0 до 50 °С (полоса В, состоящая, как правило, из двух компонентов B_1 и B_2) и выше 50 °С (полоса С). Известно, что при понижении температуры до –10 °С «замораживаются», во-первых, процессы электронного транспорта между фотосистемами 1 и 2 (окисление переносчика Q_B^-) и, во-вторых, – переходы между состояниями S_4 и S_0 водорасщепляющего комплекса, в ходе которых разлагаются молекулы воды и выделяется кислород. Таким образом, если освещать замороженный образец при температуре ниже –10 °С (в наших опытах — при –30 °С), то

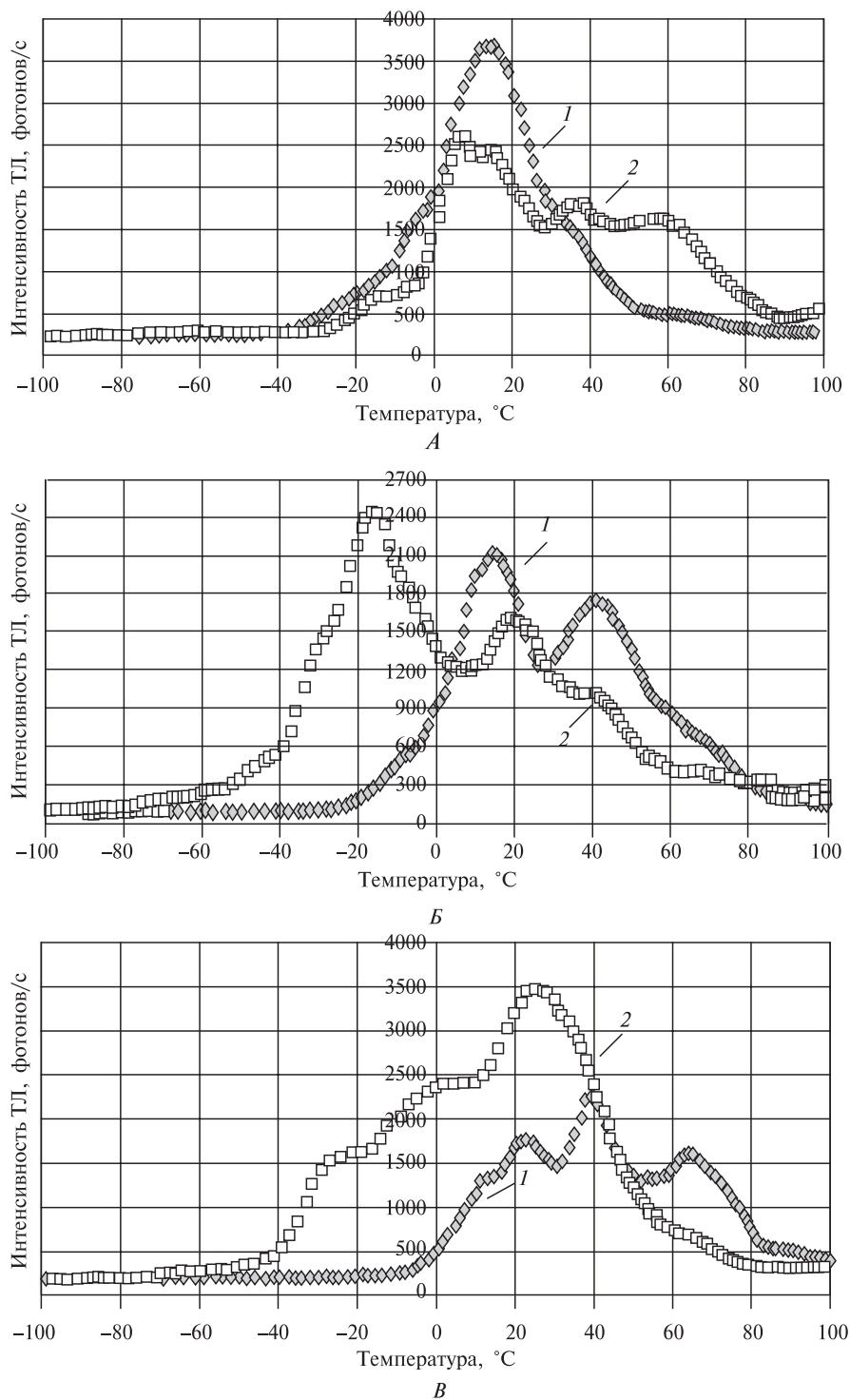


Рис. 4. Характерные кривые термолюминесценции листьев бобов:

1 — контрольные растения; 2 — растения, обработанные СКФ-экстрактами *Reynoutria sachalinensis*. При получении СКФ-экстрактов использовали CO₂ с 10 % этанола (А), CO₂ с 2 % этанола (Б) и чистый CO₂ (В)

будут накапливаться состояния Q_A^- и Q_B^- на акцепторной стороне ФС2, а также S-состояния различной степени окисленности на ее донорной стороне. Термолюминесценция возникает при последующем нагреве в результате рекомбинации электронов из цепи электронного транспорта с положительными «дырками» водорасщепляющего комплекса. Предполагается, что полоса А возникает при рекомбинации зарядов $Q_A^- S_4^+$, полоса В₁ — $Q_B^- S_3^+$, полоса В₂ — $Q_B^- S_2^+$ [15]. Полоса С непосредственно с фотосинтезом не связана. Считается, что она обусловлена хемилюминесценцией, сопровождающей реакции окисления продуктов, которые образуются в результате деструкции мембран хлоропластов при замораживании [20]. Наличие или отсутствие полосы С является определенным тестом на устойчивость растений к тем или иным неблагоприятным факторам среды: чем менее интенсивна полоса С, тем шире диапазон устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям.

При обработке проростков бобов экстрактом *R. sachalinensis* наблюдалось увеличение интенсивности ТЛ в области отрицательных температур (полоса А), но только в том случае, если при получении экстракта использовались небольшие концентрации этанола (2 %, рис. 4Б) или же этанол не использовался совсем (рис. 4В). Расчеты показали, что в обоих этих случаях значительно возросла относительная светосумма полосы А (показатель $S_A/S_{\text{общ}}$, где S_A — площадь под кривой ТЛ в интервале от -40 до 0 °С, $S_{\text{общ}}$ — площадь под всей кривой ТЛ), что свидетельствует об увеличении фотосинтетической активности растений [21]. Как отмечалось выше, это может быть связано с поступлением в листья растений, при обработке экстрактом, физиологически активных соединений, увеличивающих пул акцепторов электрона ФС2. Наиболее сильно эффект увеличения $S_A/S_{\text{общ}}$ оказался выражен при использовании 2 % этанола при получении СКФ-экстрактов, что согласуется с данными, полученными методом МИФ. Кроме того, в вариантах с чистым СО₂ и СО₂ с добавкой 2 % этанола наблюдалось уменьшение высокотемпературной ТЛ в области полосы С, что свидетельствует о повышении устойчивости мембран хлоропластов к неблагоприятным воздействиям [20]. При высокой (10 %) концентрации этанола, использовавшегося в качестве соразтворителя при получении экстракта, значительно увеличивалась интенсивность ТЛ в области полосы С (рис. 4А), что указывает на негативное воздействие больших количеств этанола на структурно-функциональные характеристики мембран хлоропластов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, методами измерения медленной индукции флуоресценции (МИФ) и термолюминесценции (ТЛ) показано, что экстракты горца сахалинского *Reynoutria sachalinensis*, полученные с помощью сверхкритической флюидной экстракции, оказывают стимулирующее действие на фотосинтетический аппарат проростков бобов *Vicia faba L.*, увеличивая фотосинтетическую активность растений. По сравнению с препаратом Milsana®, изготовленным на основе *R. sachalinensis*, значительное стимулирующее действие СКФ-экстрактов развивалось уже в первые дни после обработки растений. По сравнению с водным экстрактом горца стимулирующий эффект СКФ-экстрактов был значительно более продолжительным. Данные, полученные методом медленной индукции флуоресценции, хорошо согласуются с данными измерений термолюминесценции листьев растений.

Предполагается, что повышение фотосинтетической активности растений после обработки СКФ-экстрактами связано с ускорением электронного транспорта за счет поступления в клетки листа соединений хиноновой природы, которые могли бы служить дополнительными акцепторами электронов на восстановительной стороне ФС2. Существенно, что наибольший стимулирующий эффект наблюдался при промежуточном (2 %) содержании этанола в потоке сверхкритического CO₂, т. е. существует оптимум содержания этого соразтворителя при получении экстракта.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность д-ру А. Шмитт (Институт биологического контроля, г. Дармштадт, Германия) за предоставленный для исследований препарат Milsana®.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 08-02-00528а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Daayf F., Schmitt A., Belanger R.R. Plant Disease. 1995. Vol. 79. P. 577.
2. Konstantinidou-Doltsinis S., Schmitt A. Crop Protection. 1998. Vol. 17. P. 649.
3. Seddon B., Schmitt A. Modern Fungicides and Antifungal Compounds II / Ed. by H. Lyr, P.E. Russel, H.-W. Dehne, H. Sisler. Intercept, Andover, 1999. P. 423.
4. Herger G., Klingauf F. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent. 1990. Vol. 55. P. 1007.
5. Daayf F., Schmitt A., Belanger R.R. Plant Physiol. 1997. Vol. 113. P. 719.
6. Малиновский В.И. Физиология растений. Владивосток: Изд-во ДВГУ, 2004. С. 14, 95, 105.
7. Karavaev V.A., Schmitt A., Solntsev M.K., Yurina E.V., Yurina T.P. Modern Fungicides and Antifungal Compounds IV / Ed. by H.-W. Dehne, U. Gisi, K.H. Kuck, P.E. Russel, H. Lyr. The British Crop Protection Council, Alton, 2005. P. 281.
8. Karavaev V.A., Gunar L.E., Myakinkov A.G., Schmitt A., Glazunova S.A., Solntsev M.K. Modern Fungicides and Antifungal Compounds V / Ed. by H.-W. Dehne, H.B. Deising, U. Gisi, K.H. Kuck, P.E. Russel, H. Lyr. DPG Selbstverlag, Braunschweig, 2008. P. 285.
9. Ташиш В., Солнцев М.К. Тезисы докладов Всесоюзной конференции «Преобразование световой энергии в фотосинтезирующих системах и их моделях». Пушкино, 1989. С. 111.
10. Krause G.H., Weis E. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1991. Vol. 42. P. 313.
11. Maxwell K., Johnson G.N. J. Exp. Bot. 2000. Vol. 51. P. 659.
12. Караваяев В.А. Нелинейные регуляторные процессы в фотосинтезе высших растений. Дисс. ... д-ра физ.-мат. наук. М.: МГУ, 1990. 416 с.
13. Ducruet J.M., Gaillardon P., Vienot J. Z. Naturforsch. 1984. Vol. 39c. P. 354.
14. Karavaev V.A., Polyakova I.B., Solntsev M.K., Yurina T.P. J. of Luminescence. 1998. Vol. 76&77. P. 335.
15. Иноу Й., Сибата К. Фотосинтез / Под ред. Говинджи. М.: Мир, 1987. С. 680.
16. Solntsev M.K., Ekobena H.P.F., Karavaev V.A., Yurina T.P. J. of Luminescence. 1998. Vol. 76&77. P. 349.
17. Ташиш В. Исследование влияния биологически активных веществ на первичные процессы фотосинтеза высших растений люминесцентными методами. Дисс. ... канд. физ.-мат. наук. М.: МГУ, 1990. 262 с.
18. Экобена Ф.А.П. Запасание и трансформация световой энергии в листьях высших растений в различных физиологических состояниях. Дисс. ... канд. физ.-мат. наук. М.: МГУ, 1996. 145 с.
19. Lasar D. Biochim. Biophys. Acta. 1999. Vol. 1412. P. 1.
20. Солнцев М.К. Ж. физ. химии. 1989. Т. 63. С. 1959.
21. Юрина Т.П., Умнов А.М., Караваяев В.А., Солнцев М.К. Физиология растений. 1992. Т. 39. С. 270.

**LUMINESCENT CHARACTERISTICS OF *VICIA FABA* L. THE BEAN
LEAVES TREATED WITH SF-EXTRACTS OF *REYNOUTRIA
SACHALINENSIS***

**¹S. A. Glazunova, ¹V. A. Karavaev, ²O. I. Pokrovskiy, ²O. O. Parenago,
¹M. K. Solntcev, ¹M. S. Tishkin, ³L. E. Gunar**

¹*Department of Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University, Russia*

²*N.S. Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Moscow, Russia*

³*Russian State Agricultural University — K. A. Timiryazev MAA, Moscow, Russia*

The effect of supercritical fluid (SF) extracts of giant knotweed *Reynoutria sachalinensis* on photosynthetic activity of *Vicia faba* L. bean leaves was studied by slow fluorescence induction (SFI) and thermoluminescence (TL) methods. The treatment of plants with extracts led to the enhancement of their photosynthetic activity. The maximum stimulating effect was observed for extract obtained using carbon dioxide with 2 % of ethanol as co-solvent. The observed stimulating effect is assumed to be bound with increasing of carries pool of the photosynthetic electron transport chain of plant leaves by quinonic compounds flux into plant cells.

Key words: supercritical fluid extraction, *Reynoutria sachalinensis*, slow fluorescence induction, thermoluminescence.
