

ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *a* ХЛОРОПЛАСТОВ КОРЫ ДЕРЕВЬЕВ ТОПОЛЯ, РАСТУЩИХ В РАЗНЫХ РАЙОНАХ ГОРОДА УЛАН-БАТОР

Волгушева А. А., Яковлева О. В., Колюхов И. В.,
Ризниченко Г. Ю., Кренделева Т. Е., Гун-Аажав Т., Борданова О. С.,
Баттулга С., Рубин А. Б.

Флуоресцентные методы использовали для экологического мониторинга тополей разных районов г. Улан-Батор. Величина F_v/F_m у однолетних побегов городских деревьев мало отличалась от контроля, что указывает на относительно благополучную экологию города. Однако, гистограммы распределения значений F_v/F_m и снижение $\Delta F/F_m'$ все же указывают на ухудшение физиологического состояния тополей. Анализ индукционных кривых показал изменение состояния пула хинонов, скорости электронного транспорта в фотосистеме 2, уменьшение антенн и числа активных реакционных центров. Нарушения процессов фотосинтеза выявляются только у 3-х летних побегов, что позволяет использовать их в качестве индикатора физиологического состояния ценозов, включающих тополь.

Введение. В современном мире все больше нарушается баланс между обществом и природой. Особенно заметно влияние отрицательного антропогенного воздействия на экологическую ситуацию в городах. Известно, что интенсивное развитие промышленности, рост числа автомобилей и теплоэлектростанции (ТЭЦ) входят в число основных загрязнителей воздуха, представляя тем самым потенциальную угрозу окружающей среде. Они служат источником выбрасываемых в атмосферу многих ядовитых соединений, таких как сернистый газ, оксид азота, полициклические ароматические углеводороды (т.н. бензпирен и производные антрацена), являющиеся сильными канцерогенами, а также свинец, бром, хлор, их соединения и т.д. Все эти вещества губительно действуют не только на организм человека, но и на зеленые насаждения городов. Кроме того, сажа и пыль забивают устьица растений, затрудняя газообмен и снижая их способность к фотосинтезу.

Одним из общепринятых индикаторов состояния растений служит оценка изменений эффективности первичных процессов фотосинтеза в ответ на воздействие окружающей среды. Значение этого показателя определяется как важностью фотосинтетической функции в жизни растения, так и высокой чувствительностью фотосинтетического аппарата к повреждающим воздействиям. Нарушения в первичных процессах фотосинтеза непосредственно отражаются в изменении флуоресценции хлорофилла *a* и появляются задолго до видимых ухудшений физиологического состояния растений. Многими исследователями показано, что измерение флуоресценции хлорофилла является наиболее быстрым, удобным и информативным среди многих других экспериментальных методов, используемых для экологического мониторинга. В настоящее время флуоресцентные методы широко используются для диагностики состояния растений, начиная с отдельных растений и заканчивая состоянием экосистем (Рубин, 2000; Adams and Demming-Adams, 2004; Cavender-Bares and Bazzaz, 2004; Яковлева и др., 2005).

Современные флуоресцентные приборы позволяют получить кинетики световой индукции флуоресценции с высоким разрешением, а, следовательно, и подробную информацию о состоянии электрон-транспортной цепи фотосинтеза. В кинетике индукции флуоресценции хлорофилла в ответ на свет высокой интенсивности, обычно наблюдается два пика — J и I, появляющиеся между начальным O (F_0) и максимальным P (F_m) уровнями флуоресценции (Strasser et al., 2004). Анализ нарастания индукции флуоресценции проводят с помощью JIP-теста (Strasser and Strasser, 1995) позволяющего выявить основные характеристики первичных процессов фотосинтеза, характеризующие состояние растения в данных условиях. С помощью этого математического приема была показана чувствительность фотосинтеза к действию различных стрессов, таких как интенсивность света (Krüger et al., 1997), влияние температуры (Srivastava et al., 1997), недостаток минеральных веществ (Bussotti et al., 2005), действие токсикантов (Ali et al., 2006) и ингибиторов (Волгушева и др., 2008).

Известно, что кора деревьев содержит хлоропласты, обладающие фотосинтетической функцией. В отличие от листьев, которые имеют сезонность развития и опадают осенью, хлоропласты коры подвергаются антропогенному воздействию в течение всего года. Ранее проведенные исследования показали, что изменения параметров флуоресценции хлорофилла (методом РАМ) в коре однолетних побегов хорошо отража-

ет состояние фотосинтетического аппарата липы, часто используемой для озеленения городов (Венедиктов и др., 1999). Для некоторых видов деревьев этот метод требует специальных доработок в тех случаях, когда кора годичных побегов дерева сильно опушена (яблоня, сосна), покрыта чешуйками (лиственница), а также в том случае, когда «стратегией выживания» в городе является сбрасывание не только листьев, но и нижних веток (береза).

В данном исследовании с помощью изучения параметров флуоресценции хлоропластов коры были сделаны попытки диагностировать физиологическое состояние тополя, используемого для озеленения в разных районах города Улан-Батор. Особенностью данной работы является применение комбинации нескольких флуоресцентных методов, что позволяет не только определить физиологическое состояние фотосинтетического аппарата, но и сделать предварительное заключение об изменениях функционирования электрон транспортной цепи фотосинтеза в хлоропластах коры растений, растущих в разных экологических условиях.

Материалы и методы. *Объектом исследования* являлись тополя, растущие вдоль центральной магистрали города Улан-Батор и в 200 м от ТЭЦ. Контролем служили растения, выросшие в 20 км от города.

Параметры флуоресценции хлорофилла а коры побегов тополя измеряли с помощью флуорометра РАМ-2000 (Pulse Amplitude Modulation) («Walz, Effelrich», Германия). Измерения проводили под верхушечной почкой однолетних побегов ветвей нижнего яруса, а также в средней части трехлетних побегов этого же яруса. Для измерений использовали не менее 10 побегов, срезанных с разных ветвей нижнего яруса деревьев. Перед измерением побеги были адаптированы к темноте в течение 30 мин.

В ходе экспериментов регистрировали следующие параметры флуоресценции: F_0 — интенсивность флуоресценции хлорофилла в адаптированных к темноте образцах при действии зондирующих импульсов возбуждающего света интенсивностью $0.1 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$, длительностью 3 мкс и частотой 600 Гц (светодиоды H-3000 Stanley, $\lambda = 655 \text{ нм}$); F_m — интенсивность флуоресценции хлорофилла во время действия 0.8 с насыщающей вспышки света, восстанавливающей первичные хинонные акцепторы Q_A до Q_A (20 Вт галогеновая лампа, $\lambda < 710 \text{ нм}$, $1100 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$).

Измерение параметров флуоресценции позволяющие определить максимальную (после темновой адаптации) и реальную эффективность фотохимических процессов в условиях постоянного освещения проводили на приборе, разработанном на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ. В качестве источника света использовали светодиод с длиной волны 470 нм (Luxeon). Флуоресценция хлорофилла, возбуждаемая тестирующими импульсами света (интенсивность $0.8 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$, длительность 5 мкс), регистрировалась с помощью фотоэлектронного умножителя ФЭУ-79 после прохождения через светофильтр КС-18. Для измерения Fm и Fm' объект облучали насыщающим светом ($6000 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$) от 2 галогеновых ламп мощностью по 70 Вт через светофильтр СЗС-22. Изменения значений выхода флуоресценции на фоне постоянного света Ft и Fm' регистрировали после 3 минутного освещения образцов постоянным синим светом ($\lambda = 470 \text{ нм}$) при плотности потока квантов $400 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$.

Эффективность фотохимического преобразования энергии в ФС2 в адаптированных к темноте образцах рассчитывали по формуле $Fv/Fm = (Fm - Fo)/Fm$, при постоянном освещении $\Delta F/Fm' = (Fm' - Ft)/Fm'$ (Shreiber et al., 1995). Нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) рассчитывали по формуле $NPQ = Fm/Fm' - 1$ (Gilmore and Björkman, 1994).

Кинетики световой индукции флуоресценции регистрировали с помощью РЕА-флуорометра (Plant Efficiency Analyzer) (Hansatech, King's Lynn, Norfolk, UK). Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла *a* инициировали красным светом ($\lambda = 650 \text{ нм}$) интенсивностью $3000 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$. Для того чтобы разделить фазы роста флуоресценции, кинетики индукции флуоресценции представлены на графиках в логарифмической шкале времени. Количественный анализ характеристик первичных процессов фотосинтеза на основе параметров кинетической кривой проводили с помощью JIP-теста, основанного на теории энергетических потоков (Strasser and Strasser, 1995). Для расчетов мы использовали следующие измеряемые параметры кривых: минимальный выход флуоресценции (Fo или O); максимальный выход флуоресценции (Fm или P); интенсивность флуоресценции при 300 мкс ($F_{300\mu\text{с}}$), при 2мс ($F_{2\text{мс}}$, J-пик) и при 30 мс ($F_{30\text{мс}}$, I-пик). Уровень переменной флуоресценции (Fv) рассчитывали как $Fv = Fm - Fo$. Формулы, используемые в JIP-тесте и краткие объяснения к ним, представлены в таблице.

Используемые параметры JIP-теста, а также формулы для их расчета (табл. 1).

Таблица 1. Параметры ЛР-теста.

$V_J = (F_{2mc} - Fo)/Fv$	Относительная амплитуда ОJ фазы, характеризующая долю закрытых РЦ к их общему количеству
$V_I = (F_{30mc} - Fo)/Fv$	Относительная амплитуда II фазы характеризующая, состояние пула хинонов
$ET_O/TR_O = 1 - V_J$	Величина, характеризующая вероятность переноса электрона с Q_A^- в пул хинонов
$RC/ABS = [(F_{2mc} - Fo)/4(F_{300mc} - Fo)] \times (Fv/Fm)$	Величина, характеризующая соотношение активный РЦ/размер антенны
$P_{TR} = Fv/Fo$	Величина, характеризующая способность антенных комплексов к захвату возбужденной энергии
$P_{ET} = (Fm - F_{2mc})/(F_{2mc} - Fo)$	Величина, характеризующая эффективность миграции энергии электронного возбуждения в процессах фотосинтеза
$PI = (RC/ABS)(P_{TR})(P_{ET})$	Величина, отражающая мультипараметрическое выражение трех параметров, характеризующая эффективность фотосинтеза

Результаты и обсуждение. *РАМ-флуорометрия.* Для характеристики физиологического состояния деревьев многие исследователи используют абсолютную величину и среднестатистический разброс максимальной эффективности запасаения энергии света ФС2 (Fv/Fm) (Венедиктов и др., 1999; Яковлева и др., 2005; Lazar et al., 2006). В нашу задачу входило сравнение величин отношения Fv/Fm для хлоропластов коры тополя, растущего в разных экологических условиях в городе Улан-Батор и его окрестностях. Были проведены измерения образцов коры побегов, срезанных с деревьев, растущих в благоприятных экологических условиях, на расстоянии 200м от ТЭЦ и вдоль центральной городской магистрали, где растения могут подвергаться воздействию транспортных загрязнений. Распределение величины Fv/Fm в хлоропластах коры исследуемых деревьев полученные методом РАМ показаны на рис. 1. Видно, что среднее значение Fv/Fm для всех образцов отличается незначительно. Так, для контроля это значение составляло

0.80 ± 0.01 , для деревьев, выросших около ТЭЦ 0.81 ± 0.01 и вдоль городской магистрали 0.79 ± 0.02 . Принято считать, что значения переменной

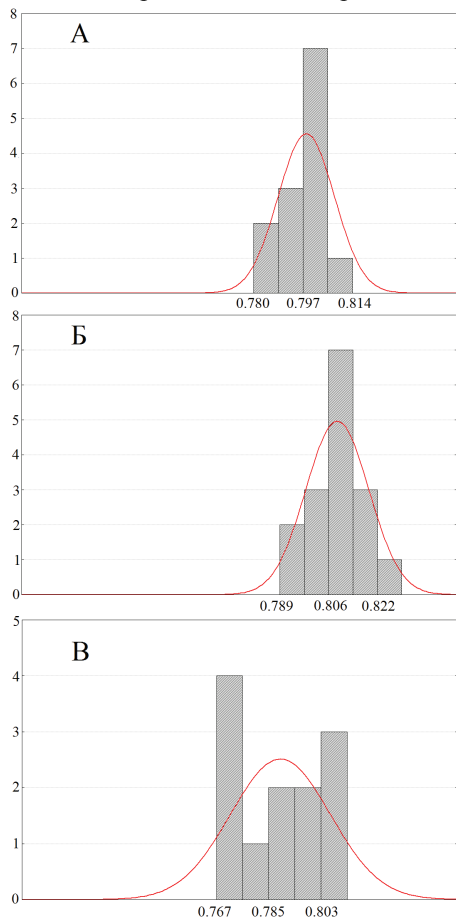


Рис. 1. Гистограммы распределения величины Fv/Fm в хлоропластах коры однолетних побегов тополя, растущего в экологически благоприятных условиях (А), в 200 м от ТЭЦ (Б) и вдоль центральной городской магистрали (В) г. Улан-Батор.

флуоресценции отражают состояние растений, следовательно, не выявлено существенных нарушений для деревьев выросших в менее благоприятных условиях. Однако, в качестве еще одного показателя состояния растений используют ширину статистического распределения значений Fv/Fm . Чем больше разброс, тем хуже состояние деревьев, этот же показатель может также характеризовать состояние ценоза (Венедиктов и др., 1999). Как видно из рис. 1.А гистограмма распределения величины Fv/Fm в хлоропластах коры однолетних побегов тополя, выросшего в благоприятных условиях, узкая и большая часть значений Fv/Fm связана с максимальными выходами. Для растений, выросших вблизи ТЭЦ, гистограмма имеет аналогичный характер, но, тем не менее, несколько увеличен разброс значений Fv/Fm по обе стороны от среднего (рис. 1.Б). Для хлоропластов коры тополя, растущего вдоль городской магистрали, ширина среднестатистического рас-

предела Fv/Fm по сравнению с контролем больше и имеет левостороннюю асимметрию — сдвинута в область меньших значений (рис. 1.В). Несмотря на эти различия, наши данные согласуются с общепринятым мнением, что значения параметра Fv/Fm выше 0.74 отражают благополучное состояние растений.

Главная особенность первичных стадий фотосинтеза заключается в том, что они активно регулируются растительным организмом в соответствии с его физиологическим состоянием, для поддержания оптимального уровня метаболизма в измененных условиях окружающей среды. Одним из простых способов оценить регуляторные возможности первичных процессов фотосинтеза, является измерение параметров флуоресценции хлорофилла в условиях освещения. В связи с этим, представляло интерес, сравнить изменения максимальной эффективности преобразования энергии ФС2 (Fv/Fm) с реальной ($\Delta F/Fm'$), которая учитывает нефотохимическое тушение. Для проведения этого эксперимента был использован флуорометр, разработанный на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ (Kuznetsova et al., 2008). В ходе эксперимента адаптированные к темноте образцы освещали в течение 3 минут светом интенсивностью $400 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$, затем измеряли параметры флуоресценции на свету (см. материалы и методы). Из рис. 2 видно, что полученные на данном приборе значения абсолютной величины Fv/Fm и ее среднее отклонение у побегов, выросших в экологически благоприятных и неблагоприятных условиях также не различались, что полностью согласуется с результатами, полученными методом РАМ. Обращает на себя внимание тот факт, что уже при небольшой интенсивности и кратковременном воздействии ($400 \text{ мкЭм}^{-2}\text{с}^{-1}$, 3 мин.) свет действует по-разному на хлоропласты коры исследуемых побегов тополя. Так, в контрольных образцах под действием света величина $\Delta F/Fm'$ на 30% ниже величины Fv/Fm , при этом стандартное отклонение оставалось незначительным. В то время как у растений, выросших вблизи магистрали и ТЭЦ, значения $\Delta F/Fm'$ были ниже уже на 40%, а разброс существенно увеличивался.

В основе нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) лежит частичная диссипация не израсходованной в процессах фотосинтеза энергии поглощенных квантов в тепло. Степень NPQ оценивали по Штерну-Волмеру, т.е. по изменениям максимального уровня флуоресценции, измеренного в момент полного восстановления пула Q_A . Результаты расчета NPQ представлены на рис. 2. Как видно из рисунка,

величина NPQ у побегов тополя выросшего около городской магистрали увеличивалась на 56%, а у растений выросших у ТЭЦ более чем в два раза по сравнению с контролем. Поскольку изменения величин эффективности фотохимического преобразования энергии и NPQ отражают регуляторные изменения в комплексах ФС2 представляло интерес исследовать индукционные кривые флуоресценции позволяющие получить более детальную информацию о функционировании фотосинтетического аппарата хлоропластов коры тополя в разных экологических условиях.

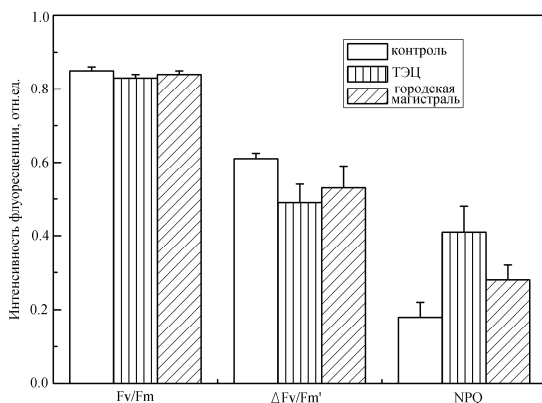


Рис. 2. Сравнение величин F_v/F_m , $\Delta F/F_m'$ и NPQ хлорофилла коры однолетних побегов тополя растущего в разных экологических условиях.

PEA-флуорометрия. Большой информативностью обладают кинетики световой индукции флуоресценции, зарегистрированные при высокой интенсивности света на PEA-флуорометре. В такой индукционной кривой обычно наблюдаются несколько компонент (O-J-I-P-переходы), которые связаны с поступательным снижением фотохимического тушения и развитием нефотохимического тушения флуоресценции в ФС2 (Lazar, 2006). Фазу OJ связывают со светоиндуцированным восстановлением Q_A , в то время как фаза IP отражает, главным образом, дальнейшее накопление восстановленного Q_A^- , обусловленное восстановлением Q_B и пула хинонов, т.е. последовательным накоплением $Q_A^-Q_B$, $Q_A^-Q_B^{2-}$, и PQH_2 состояний. Уровни O и P на кинетической

кривой соответствуют величине F_o и F_m (Heredia, De Las Rivas, 2003; Strasser, 2004).

На рис. 3А представлены индукционные кривые флуоресценции хлоропластов коры однолетних побегов тополя выросшего в экологически благоприятных условиях (а), около ТЭЦ (б) и городской магистрали (в). Как видно из рисунка, все 3 фазы (OJ, JI, IP) четко выражены у всех деревьев, также как и снижение уровня флуоресценции после достижения максимума, отражающее отток электронов от ФС1 (Schansker et al., 2005). Однако, кривые однолетних побегов тополя выросших в неблагоприятных условиях характеризуются сниженными минимальными (O или F_o) и максимальными (P или F_m) значениями, а также более медленным снижением уровня флуоресценции после достижения максимума. Кроме того, у этих растений уменьшается уровень переменной флуоресценции (OP или F_v), что указывает на снижение содержания фотохимически активных центров ФС2 на единицу поверхности коры. На рис. 3Б представлены эти же кривые, нормированные на амплитуду OJ фазы (V_J), которая отражает восстановление Q_A , когда Q_B находится в окисленном состоянии, т.е. скорость ре-окисления Q_A максимальна. Как видно из рисунка, кинетики однолетних побегов тополя выросших в неблагоприятных условиях характеризуются меньшим наклоном нарастания OJ фазы и значительным увеличением роста амплитуды IP фазы, в основном за счет вклада фазы JI, которая характеризует восстановление пула хинонов (Schreiber et al., 1989). Этот результат прямо указывает на более окисленное состояние пула хинонов в хлоропластах коры деревьев, выросших в неблагоприятных экологических условиях. Поскольку отток электронов от ФС1 у этих растений снижен (о чем говорит замедление кинетической кривой после достижения максимума), можно предположить, что окисление пула хинонов происходит за счет более активной работы пластохинон- O_2 -оксидоредуктазы (по сравнению с контролем), которая способна переключать электронный транспорт на O_2 (Kuntz, 2004). Это предположение согласуется с литературными данными по накоплению этого белка и/или индукции его генов в условиях стресса, например, у табака при недостатке аскорбат пероксидазы и каталазы (Rizhsky et al., 2002), а также дефицита ФС2 (Baena-Gonzalez et al., 2003).

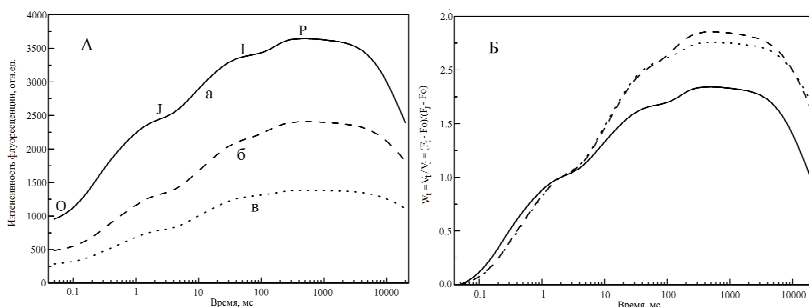


Рис. 3. Индукционные кривые флуоресценции хлоропластов коры однолетних побегов тополя из разных экологических районов, а — контроль, б — ТЭЦ, в — центральная городская магистраль. На рис. Б представлены эти же кривые, нормированные на амплитуду OJ фазы (V_J), т.е. переменная флуоресценция индукционных кривых (W_t) нормирована как $W_t = V_t/V_J = (F_t - F_0)/(F_J - F_0)$.

ЛР-тест. Для получения более подробной информации об изменении функционального состояния исследуемых побегов, был проведен ЛР-тест, предполагающий математическую обработку кинетических кривых (Strasser et al., 2000; 2004). Среди многообразных параметров ЛР-теста для физиологических и экологических исследований, с нашей точки зрения, наиболее подходящим является величина PI, которая характеризует фотосинтетическую активность ФС2, определяющуюся тремя основными процессами, а именно, эффективностью поглощения световой энергии (ABS), захвата энергии возбуждения (TR) и ее использования в электронном транспорте (ET) (Strasser et al., 2000; 2004).

В нескольких исследованиях было показано, что параметр PI является более чувствительным к изменению окружающей среды, по сравнению с Fv/Fm (Hermans et al., 2003; Thach et al., 2007). Использование данного параметра позволяет выявить изменения фотосинтетического аппарата в ответ на влияние различных факторов окружающей среды: увеличения температуры, недостатка влаги и заморозков (De Ronde et al., 2004; Strauss et al., 2006; Thach et al., 2007). На рис. 4 показано изменение параметров ЛР-теста, рассчитанных из индукционных кривых хлоропластов коры побегов тополей, выросших в неблагоприятных экологических условиях, в процентах от контроля. Как видно из рисунка, у побегов первого года (светлые столбцы) параметр RC/ABS увеличивается на 40%. Это свидетельствует об уменьшении размера антенны

(Adams and Demming-Adams, 2004). Способность к захвату (P_{TR}) и конверсии возбужденной энергии (P_{ET}) увеличивается как у деревьев растущих около ТЕЦ (40% и 60%, соответственно), так и у деревьев растущих вдоль городской магистрали (40% и 50%). Увеличение этих трех параметров приводит к увеличению значений PI в два раза (ТЭЦ) и чуть меньшему увеличению этого параметра у деревьев, растущих вдоль магистрали. Кроме того, в хлоропластах коры исследуемых побегов уменьшается количество закрытых реакционных центров (V_J), увеличивается вероятность переноса электрона с Q_A^- в пул хинонов (E_{To}/T_{ro}) и соответственно уменьшается восстановленность пула хинонов (V_I). Наши результаты аналогичны полученным ранее данным об увеличении PI и уменьшении размера антенны у листьев чая (*Camellia sinensis*) в ответ на увеличение концентрации CO_2 в среде (Lin et al., 2009). Известно, что выбросы теплоэлектростанций и автомобилей увеличивают содержание CO_2 в атмосфере. Повышение концентрации этого газа в воздухе могут приводить к стимуляции фотосинтеза, что и приводит к уменьшению восстановленности пула хинонов. Однако, накопление продуктов углеводного метаболизма, со временем может привести к увеличению потока электронов из цепи дыхания в пул хинонов, осуществляемого НАДН-дегидрогеназой. В результате наблюдается увеличение восстановленности пластохиноновых акцепторов ФС2 (Q_A и Q_B) и как следствие, снижение скорости фотосинтеза (Рубин, Кренделева, 2003). Подобную картину мы видим у побегов третьего года (темные столбцы) тополей, выросших в менее благоприятных экологических условиях (рис. 4). У побегов, которые дольше подвергались антропогенному воздействию, еще больше уменьшается антенна по сравнению с побегами первого года. Но, несмотря на это, происходит значительное уменьшение эффективности использования поглощенной энергии (P_{ET}) и, как следствие, уменьшение более чем в два раза параметра PI , вследствие увеличения доли закрытых РЦ ФС2 (V_J), восстановленности пула хинонов (V_I) и снижения вероятности окисления восстановленного Q_A^- пулом хинонов (E_{To}/T_{ro}).

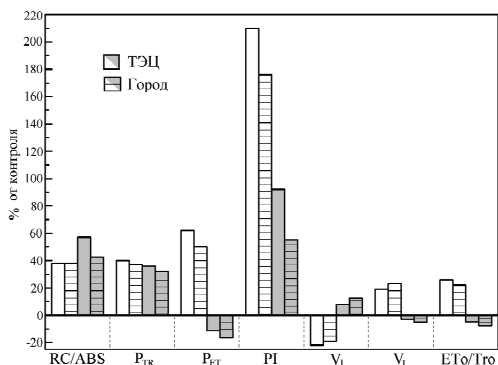


Рис. 4. Изменение параметров JIP-теста рассчитанных из индукционных кривых хлоропластов коры однолетних (светлые столбцы) и трехлетних (темные столбцы) побегов тополя в ответ на влияние антропогенных факторов. По вертикальной оси показан ответ рассматриваемых деревьев на стресс относительно контрольных растений, рассчитанный в процентах: $(\text{значения}_{\text{при стрессе}} - \text{значения}_{\text{в контроле}}) \times 100 / \text{значения}_{\text{в контроле}}$.

Вывод. В результате проведенного исследования состояния тополей в разных районах города Улан-Батор было показано, что величина Fv/Fm , характеризующая потенциальную эффективность запасаения энергии света в процессах фотосинтеза, измеренная для хлоропластов коры, в благоприятных экологических условиях, на расстоянии 200 м от ТЭЦ и вдоль центральной городской магистрали изменялась незначительно. Это свидетельствует об относительно благополучной экологической обстановке в местах произрастания исследуемых деревьев. Однако, судя по гистограммам распределения величины Fv/Fm некоторые изменения физиологического состояния растений вблизи ТЭЦ и, особенно вдоль магистрали все же имеют место. Сравнения величин $\Delta F/Fm'$ у разных вариантов и величины нефотохимического тушения показывают, что реальная эффективность преобразования энергии в ФС2 у деревьев растущих в неблагоприятных условиях снижена, а NPQ увеличено. Более четко нарушения видны на трехлетних побегах тополей, которые дольше подвергались влиянию отрицательных экологических факторов. Это может быть связано как с экологически благополучной экологической обстановкой в городе Улан-Батор, так и с более высокой толерантностью тополя, по сравнению с липами, растущими в Москве, на которых нарушения хорошо видны уже на однолетних побегах (Венедиктов и др., 1999).

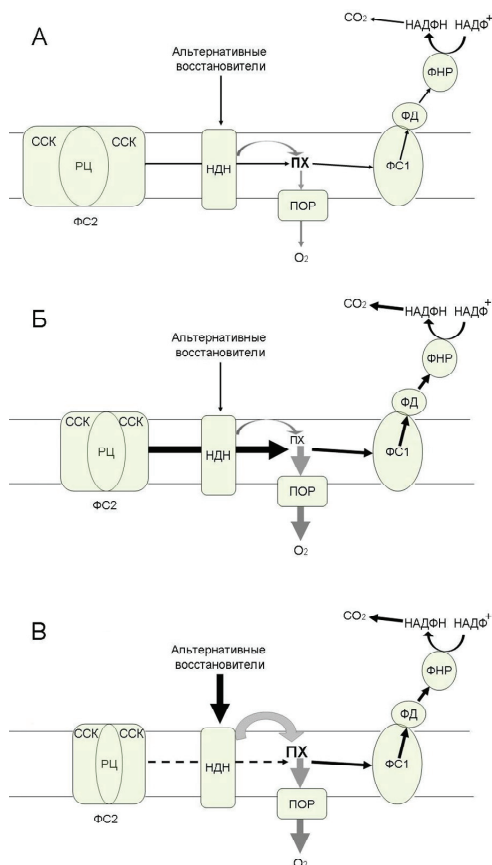


Рис. 5. Схема изменений организации первичных процессов фотосинтеза в тилакоидных мембранах коры контрольных (А), однолетних (Б) и трехлетних (В) побегов тополей, растущих в неблагоприятных условиях. Поскольку мы не выявили различий в состоянии однолетних и трехлетних побегах контрольных растений, на схеме они объединены. ФС — фотосистема, РЦ — реакционный центр, НДН — НАДН-дегидрогеназа, ПХ — пул хинонов, ПОР — пластохинон- O_2 -оксидоредуктаза, Фд — ферредоксин.

Феноменологическая схема изменений организации первичных процессов фотосинтеза в тилакоидных мембранах коры контрольных (А), однолетних (Б) и трехлетних (В) побегов тополей, растущих в неблагоприятных условиях, представлена на рис. 5. Она носит условный характер и для простоты выявления тенденций объединяет результаты, полученные на растениях, выросших около ТЭЦ и городской магистрали. Увеличение фотосинтетической активности у этих деревьев, на что указывают показатели ЛР-теста, может быть связано с локальным возрастанием концентрации CO_2 в атмосфере. У деревьев выросших в неблагоприятных экологических условиях, уменьшается размер антенны, вследствие чего уменьшается количество закрытых РЦ и возрастает отток электронов от ФС2, однако пул хинонов более окислен по сравнению с контролем. Это может иметь место при активном оттоке электронов из пула хинонов. Уменьшение переменной флуоресценции, тем не менее, свидетельствует о снижении числа активных центров ФС2. Имеются данные, что в таких условиях может увеличиваться активность пластохинон- O_2 -оксидоредуктазы (Baena-Gonzalez et al., 2003), которая способствует оттоку электронов из пула хинонов на O_2 . Избыточное восстановление молекул O_2 может приводить к образованию активных форм O_2 , разрушающих различные компоненты фотосинтетического аппарата, в особенности ФС2 (Бухов, Егорова, 2006). Оптимальный фотосинтез может поддерживаться только до определенного момента. С продолжительными или более сильными стрессовыми воздействиями регуляторная система растения может не справиться. При длительном воздействии неблагоприятных условий у побегов третьего года (рис. 5.В) может происходить накопление восстановленных продуктов темного метаболизма (вследствие увеличения интенсивности фотосинтеза) и пул хинонов восстановлен за счет притока электронов от альтернативных восстановителей. Следует отметить, что эта тенденция более развита у деревьев растущих вдоль городской магистрали, поскольку кроме увеличения концентрации CO_2 в выхлопах бензина содержатся тяжелые металлы, другие токсические вещества, а также твердые частицы забивающие устьица.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ-0804-90-205-Монг_а, НШ-853.2008.4 и ГК 02.512.11.2213

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бухов Н.Г., Егорова Е.А. Механизмы и функции альтернативных путей переноса электронов в хлоропласте, связанных с фотосистемой I // *Физиология растений*. — 2006. — Т. 53, № 5. — С. 645–657.
- Венедиктов П.С., Волгин С.Л., Казимирко Ю.В., Кренделева Т.Е., Кукарских Г.П., Макарова В.В., Лаврухина О.Г., Погосян С.И., Яковлева О.В., Рубин А.Б. Использование флуоресценции хлорофилла а для контроля физиологического состояния зеленых насаждений в городских экосистемах // *Биофизика*. — 1999. — Т. 44, № 6. — С. 1037–1047.
- Волгушева А.А., Кукарских Г.П., Антал Т.К., Лаврухина О.Г., Кренделева Т.Е., Рубин А.Б. Влияние дибромтимохинона на параметры флуоресценции хлорофилла а в клетках *Chlamydomonas reinhardtii*, культивируемых на полной питательной среде и в условиях серного голодания // *Биофизика*. — 2008. — Т. 53, № 5. — С. 787–796.
- Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге // *Соросовский образовательный журнал*. — 2000. — Т. 6, № 4. — С. 7–13.
- Рубин А.Б., Кренделева Т.Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза // *Биофизика*. — 2004. — Т. 49, № 2. — С. 239–253.
- Яковлева О.В., Талипова Е.В., Кукарских Г.П., Кренделева Т.Е., Рубин А.Б. Изучение параметров флуоресценции хлорофилла в листьях травянистых растений, растущих в разных экологических условиях // *Биофизика*. — 2005. — Т. 50, № 6. — С. 1112–1119.
- Adams W.W., Demming-Adams B. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment // In: *Papageogiou G, Govindjee (eds) Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis / Advances in photosynthesis and respiration / Springer, Dordrecht*. — 2004. — Vol. 19. — P. 583–604.
- Ali N. A., Dewez D., Didur O., Popovic R. Inhibition of photosystem II photochemistry by Cr is caused by the alteration of both D1 protein and oxygen evolving complex // *Photosynthesis Research*. — 2006. — August. — Vol. 89, no. 2. — P. 81–87.
- Baena-Gonzalez E, Allahverdiyeva Y, Svab Z, Maliga P, Josse E. M, Kuntz M, Maenpaa P, Aro E. M. Deletion of the tobacco plastid psbA gene triggers an upregulation of the thylakoid-associated NAD(P)H dehydrogenase complex and the plastid terminal oxidase (PTOX) // *Plant Journal*. — 2003. — September. — Vol. 35, no. 6. — P. 704–716.

- Bussotti F., Agati G., Desotgiu R., Matteini P., Tani C. Ozone foliar symptoms in woody plant species assessed with ultrastructural and fluorescence analysis // *New Phytologist*. — 2005. — January. — Vol. 166. — P. 941–955.
- Cavender-Bares J., Bazzaz F.A. From leaves to ecosystems: using chlorophyll fluorescence to access photosynthesis and plant function in ecological studies // *In: Papageogiou G, Govindjee (eds) Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis / Advances in photosynthesis and respiration / Springer, Dordrecht*. — 2004. — Vol. 19. — P. 737–755.
- De Ronde J.A., Cress W.A., Krüger G.H.J., Strasser R.J., Van Staden J. Photosynthetic response of transgenic soybean plants, containing an Arabidopsis P5CR gene, during heat and drought stress // *Journal of Plant Physiology*. — 2004. — November. — Vol. 161, no. 6. — P. 1211–1224.
- Gilmore A.M., Björkman O. Adenine nucleotides and the xanthophyll cycle in leaves. II. Comparison of the effects of CO₂- and temperature-limited photosynthesis on Photosystem II fluorescence quenching, the adenylate energy charge and violaxanthin deepoxidation in cotton // *Planta*. — 1994. — Vol. 192, no. 4. — P. 537–544.
- Heredia P., De Las Rivas J. Fluorescence induction of photosystem II membranes shows the steps till reduction and protonation of the quinone pool // *Journal of Plant Physiology*. — 2003. — December. — Vol. 160, no. 12. — P. 1499–1506.
- Hermans C., Smeyers M., Rodrigues R.M., Eyletter M, Strasser R., Dehaye J.P. Quality assessment of urban's trees: a comparative study of physiological characterization, airborne imaging and on site fluorescence monitoring by the OJIP test // *Journal of Plant Physiology*. — 2003. — January. — Vol. 160, no. 1. — P. 81–90.
- Krüger G.H.J., Tsimilli-Michael M., Strasser R.J. Light stress provokes plastic and elastic modifications in structure and function of Photosystem II in camellia leaves // *Physiology Plantarum*. — 1997. — Vol. 101, no. 2. — P. 265–277.
- Kuntz M. Plastid Terminal Oxidase and Its Biological Significance // *Planta*. — 2004. — Vol. 218, no. 6. — P. 896–899.
- Kuznetsova N.I., Azizbekyan R.R., Konyukhov I.V., Pogosyan S.I., Rubin A.B. Inhibition of photosynthesis in cyanobacteria and plankton algae by the bacterium *Brevibacillus laterosporus* metabolites // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. — 2008. — T. 421, no. 2. — P. 262–266.
- Lazar D., Sušila P., Nauš J. Early detection of plant stress from changes in distributions of chlorophyll a fluorescence parameters measured with fluorescence imaging // *Journal of Fluorescence*. — 2006. — Vol. 16, no. 2. — P. 173–176.
- Lin Z-H., Chen L-S., Chen R-B., Zhang F-Z., Jiang H-X and Tang N. CO₂ assimilation, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, carbohydrates and

- photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply // *BMC Plant Biology*. — 2009. — April. — Vol. 21. — P. 9–43.
- Rizhsky L, Hallak-Herr E, Van Breusegem F, Rachmilevitch S, Barr JE, Rodermel S, Inze D, Mittler R. Double antisense plants lacking ascorbate peroxidase and catalase are less sensitive to oxidative stress than single antisense plants lacking ascorbate peroxidase or catalase // *Plant Journal*. — 2002. — July. — Vol. 32, no. 3. — P. 329–342.
- Schansker G., Tóth S.Z., Strasser R.J. Methylviologen and dibromothymoquinone treatments of pea leaves reveal the role of photosystem I in the Chl a fluorescence rise OJIP // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 2005. — Vol. 1706, no. 3. — P. 250–261.
- Schreiber U., Neubauer C., Klughammer C. Devices and Methods for Room-Temperature Fluorescence Analysis // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London / Series B, Biological Sciences*. — 1989. — Vol. 323. — P. 241–251.
- Srivastava A., Guisse B., Greppin H., Strasser R. J. Regulation of antenna structure and electron transport in PS II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient OKJIP // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 1997. — Vol. 1320, no. 1. — P. 95–106.
- Strasser B.J., Strasser R.J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test // In: Mathis P (ed) *Photosynthesis: From Light to Biosphere / Kluwer Academic Publishers / Dordrecht*. — 1995. — August. — P. 977–980.
- Strasser R.J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic sample // In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (eds) *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis / Advances in photosynthesis and respiration / Dordrecht*. — 2000. — August. — Vol. 19 — P. 321–362.
- Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. Analysis of chlorophyll a fluorescence transient // In: Papageorgiou GC and Govindjee (eds.) *Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis / Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London*. — 2004. — P. 321–362.
- Strauss A.J., Krüger G. H.J., Strasser R.J., Van Heerden P.D.R. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P // *Environmental and experimental botany*. — 2006. — Vol. 56, no. 2. — P. 147–157.

Thach L. B., Shapcott A., Schmidt S., Critchley C. The OJIP fast fluorescence rise characterizes Craptophyllum species and their stress responses // *Photosynthesis Research*. — 2007. — May. — Vol. 94, no. 2. — P. 423–436.

ANALYSIS OF THE CHLOROPHYLL FLUORESCENCE PARAMETERS IN THE BARK CHLOROPLASTS OF POPLAR FROM DIFFERENT AREAS OF ULAN BATOR

**Volgusheva A. A., Yakovleva O. V., Konyukhov I. V.,
Riznichenko G. Yu., Krendeleva T. E., Gunn-Aajav T., Bordanova O. S.,
Battulga Ch., Rubin A. B.**

Fluorescence methods were used for monitoring of poplar from different areas of Ulan Bator. The Fv/Fm ratio was similar in control and annual shoots of trees from the city which indicated a relatively favourable ecological situation. However, histograms of the values Fv/Fm distribution and decreased $\Delta F/Fm'$ ratio indicate deterioration of the physiological state of these trees. Analysis of the chlorophyll fluorescence transients showed changes of redox state of plastoquinone pool, electron transport rate in photosystem II, decrease of the size of the Chl. antenna and the number of active photosystem II reaction centers. Derangements of photosynthetic process appeared only in triennial shoots. This fact suggests about applicability of fluorescence probing of the three-years old tree shoots for evaluation physiological state of the whole plant as well as for monitoring ecological state of the phytocenosis.