

ЭКОЛОГИЯ

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДЕРЕВЬЕВ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ В Г. МОСКВЕ

Д.И. Орехов, Г.А. Калабин

Экологический факультет
Российский университет дружбы народов
Подольское шоссе, 8/5, Москва, Россия, 113093

Рассматриваются основные изменения параметров флуоресценции фотосинтетического аппарата древесных пород (береза, липа, туя, ель) под влиянием загрязнения в г. Москве. Особое внимание уделяется анализу ЛР-теста, световых кривых, параметру нефотохимического тушения. Демонстрируются возможности современного флуориметра для экологических исследований с целью более полного анализа устойчивости пород, который не проводился ранее при данных условиях.

Ключевые слова: флуоресценция, хлорофилл, нефотохимическое тушение, фотосинтез, квантовый выход, эффект Каутского.

В настоящее время стали появляться фирмы, производящие относительно недорогие и качественные приборы для научных исследований. Одним из главных плюсов таких компактных портативных приборов является наличие запрограммированных протоколов для проведения специальных научных измерений, что делает их очень доступными для начинающих исследователей фотосинтеза. Главным преимуществом портативных приборов является большая скорость проведения измерений без специальной пробоподготовки, носящей щадящий характер по отношению к растениям. Специальные зажимы предотвращают нанесение какого-либо механического повреждения для фотосинтетических органов растения. Полученные результаты в дальнейшем могут использоваться для научного анализа состояния растения. Но без понимания некоторых фундаментальных основ теории флуоресценции хлорофилла невозможно провести полноценный анализ физиологического состояния растения [1].

В статье рассматривается связь между основными параметрами быстрой флуоресценции хлорофилла листьев (хвои) и стрессовых факторов, воздействующих на древесные растения в условиях города Москвы. Основной задачей было максимально точно идентифицировать состояние деревьев, используя широкие возмож-

ности портативного флуориметра, тем самым подтвердить на практике использование флуориметров как своего рода «сканеров» для оценки физиологического состояния древесных растений.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

Объектом исследования являлись деревья, произрастающие в районах с высоким загрязнением выхлопными газами от автомобильного транспорта — на Дмитровском шоссе, вблизи ТЭЦ под линиями высоковольтных электропередач неподалеку от внутренней стороны МКАД, а также те же самые виды деревьев, но произрастающие в районе пониженного загрязнения выхлопными газами — в центральной части Главного ботанического сада РАН. Породы исследуемых деревьев: береза, липа, туя, ель.

Измерения параметров флуоресценции проводились на импульсно-модулированном приборе серии FluorPen 100: PAR-FluorPen FP 100-MAX-LM. Фирма-изготовитель — Photon Systems Instruments (PSI, Чехия, г. Драсов). Измерения проводились на «живых» листьях побегов деревьев. Количество образцов варьировало: 15—25 шт. Вычислялось среднее арифметическое значение, и определялось среднее квадратическое отклонение по выборке значений (формулы (1) и (2)). Все образцы предварительно выдерживались в темноте перед проведением замеров (1—5 мин.).

ОСНОВНЫЕ ИЗМЕРЯЕМЫЕ ПАРАМЕТРЫ

Ft (steady-state fluorescence) — величина эквивалентная F_0 для образцов листьев, предварительно выдержанных в темноте (зажим прибора предоставляет такую возможность благодаря полному закрытию измеряемого окошка перед проведением измерения); нулевой уровень флуоресценции, соответствующий «открытому» состоянию большинства реакционных центров фотосистемы 2, когда протекание фотохимических процессов ничем не ограничивается.

QY (quantum yield) — квантовый выход — параметр, определяющий эффективность работы фотосистемы 2 в первичных процессах разделения заряда в реакционном центре P680, параметр эквивалентен F_v/F_m для образцов, выдержанных в темноте и эквивалентен F_v/F_m' для образцов, адаптированных к яркому свету.

NPQ (non-photochemical quenching) — нефотохимическое тушение флуоресценции как один из альтернативных вариантов релаксации возбужденного синглетного хлорофилла “a” [1] — протокол помимо этой величины дает вклад фотохимического тушения флуоресценции (photochemical quenching), — процесс фотохимического переноса по цепи переносчиков заряда кванта света. Благодаря высокому динамическому диапазону амплитудного импульсно-модулированного флуориметра и короткой насыщающей вспышке возможно определение максимальной работы (выхода) флуоресценции при закрытых реакционных центрах не только у адаптированных к темноте образцов, но и при освещении образца постоянным действующим светом во время регистрации индукционной кривой флуоресценции. Это дает возможность определить вклад как фотохимического тушения, так и нефотохимического тушения флуоресценции. Вначале измерительным светом прибор регистрирует нулевой фон F_0 , после чего короткой насыща-

ющей вспышкой приводит к восстановлению пула пластохинона и определяется максимальный уровень флуоресценции в условиях темновой адаптации F_m . После непродолжительной темновой релаксации образец подвергается воздействию актиничного света (несколько десятков секунд) для образования эффекта Каутского, кроме того последовательность насыщающих вспышек при максимальном актиничном свете вызывает срабатывание нефотохимического тушения NPQ и эффективного квантового выхода фотосинтеза QY у адаптированного к свету образца. После воздействия продолжительным освещением определяется релаксация нефотохимического тушения у адаптированного к темноте образца серией насыщающих вспышек. Условно схема измерения нефотохимического тушения представлена в табл. 1.

Таблица 1

Протокол измерения NPQ

Фаза	Продолжительность	Количество вспышек	Продолжительность одной вспышки	Временной интервал между вспышками
Световая	60 с	5	7 с	12 с
Темновой адаптации	88 с	3	11 с	26 с

LC (light curves) — световые кривые — протокол, дающий информацию о зависимости фотосинтеза от интенсивности светового воздействия. Метод основан на поступенном увеличении интенсивности потока фотонов и соответствующем изменении уровня QY и Ft. Условно протокол измерения световых кривых представлен в табл. 2.

Таблица 2

Протокол измерения LC

Количество фаз	Продолжительность фазы	Набор интенсивностей светового потока (ммоль м ⁻² с ⁻¹)
7	60 с	10; 20; 50; 100; 300; 500; 1000

Фотопромежуточные кривые ОПР согласно JIP-тесту представлены в виде логарифмической временной шкалы. Согласно данному измерению начальная точка Fo соответствует временной отметке по оси X при 50 мкс, точка J плеча OJ — соответственно при 2 мс, точка I плеча JI — соответственно при 60 мс. Пик P согласно тесту соответствует максимальной флуоресценции, когда большинство реакционных центров оказываются закрытыми в результате освещения образца листа (хвой).

Вся статистическая обработка результатов осуществлялась по формулам (1) и (2):

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}, \quad (1)$$

где $\sum X_i$ — сумма значений; n — число значений;

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}. \quad (2)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗМЕРЕНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проводилось сравнение по JIP-тесту деревьев, произрастающих в районе загрязнения выхлопными газами, и контролем (Ботанический сад). Результаты представлены на рис. 1 (на примере березы). Когда действуют актиничным светом высокой интенсивности на листья, выдержанные в темноте, можно выявить постепенное возрастание флуоресценции по основным ступеням, начиная с начальной O-ступени, далее через J и I, достигая максимума уровня флуоресценции на P (пик). Этот градиент быстрого возрастания флуоресценции дает важную информацию о фотохимической активности фотосистемы 2 [2]. Штрассер использовал этот квантовый метод для экспрессной оценки физиологических параметров растения.

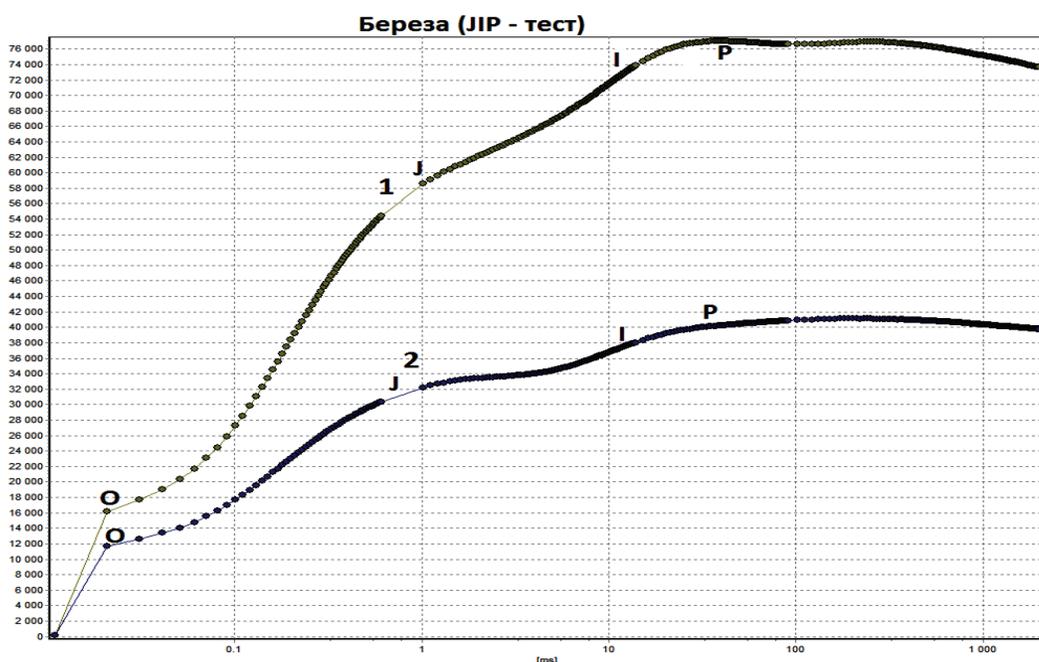


Рис. 1. Фотоиндукционная кривая для березы (12.09.2013)
1 — контроль; 2 — загряз.

Показано, что по F_0 (отметка O) — начальный уровень флуоресценции, характеризующий долю открытых реакционных центров готовых к принятию электронов для последующей их передачи по цепи переносчиков Qa и др., — наблюдаются различия не очень значительные, как может показаться на первый взгляд, но по мере развития динамики кривой OJIP значения флуоресцентного сигнала по фазам OJ и JI значительно разнятся и их максимумы-пики (P) разделяет значительное пространство на графике. Ступень J обусловлена процессами восстановления Qa, ступень I — гетерогенностью фотосистемы 2 [3]. Пик для контроля соответствует 76 758 отн. ед., а для загрязненного образца — почти 41 000 отн. ед. Разница почти вдвое по F_m . Характерно для кривой 2 более пологое положение относительно кривой 1 и меньшая высота ступеней между кардинальными точка-

ми J и I, характеризующие уровень восстановленности первичных хинонных акцепторов фотосистемы 2. По параметру Fv/Fm для кривых 1 и 2 значения составляют соответственно 0,755 и 0,677. Это говорит о различной способности к нециклическому переносу электронов по цепи переносчиков к реакционному центру фотосистемы 1. Интересно провести аналогичное сравнение зеленого листа березы только с уже пожелтевшим листом, утратившим хлорофилл (рис. 2).

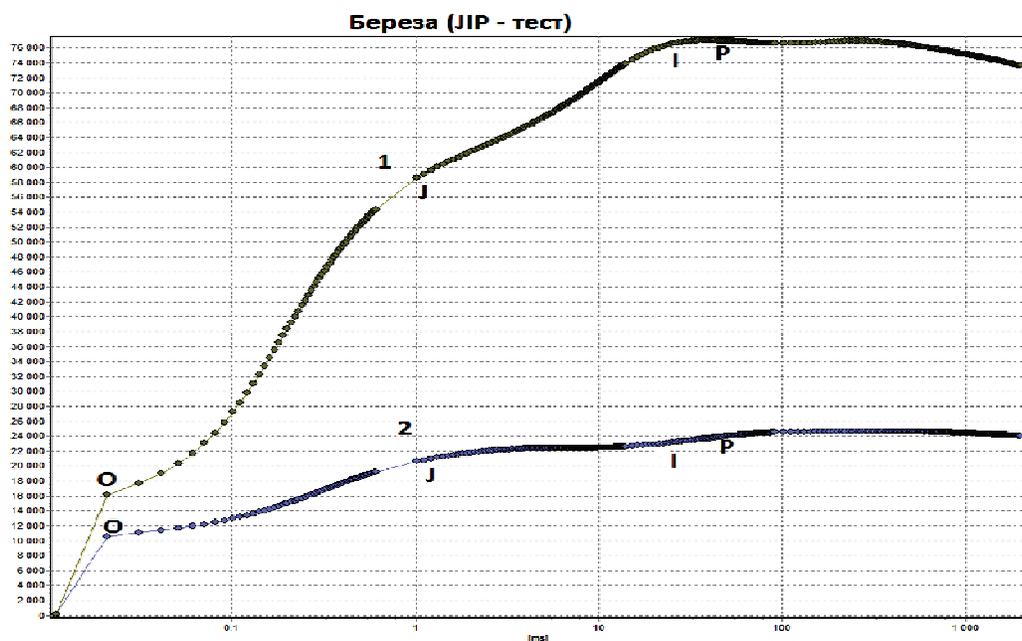


Рис. 2. Фотоиндукционная кривая для листьев березы с наличием/отсутствием хлорофилла
1 — зеленый лист; 2 — желтый лист

Характер кривой 1 для зеленого листа на рис. 2 очень напоминает контрольный лист из Ботанического сада РАН на рис. 1 — прослеживаются довольно четкие ступени J и I. Но при рассмотрении кривой 2 для желтого листа, утратившего практически весь свой хлорофилл, кривая почти линейна, очень пологая с едва выделяющимися ступенями J и I. Это сравнение необходимо для того, чтобы примерно можно было оценить, насколько функциональное состояние березы в данном случае находится в подавленном состоянии или, наоборот, в состоянии полной активности и оптимума по отношению к окружающим факторам среды. На рис. 1 кривая 2, соответствующая месту вблизи остановки на Дмитровском шоссе, находится примерно где-то посередине между кривыми 1 и 2 на рис. 2, что говорит о достаточно подавленном состоянии растения, но все еще активно фотосинтезирующем, так как еще можно выделить на графике ступени J и I. Данные этих рисунков были получены 12 сентября 2013 г. в утренние часы около 9 ч утра по московскому времени. Это время подготовки к вхождению в глубокий зимний покой. Полностью вся листва опала в данном районе примерно к 15 октября 2013 г., хотя встречались еще единичные деревья в Ботаническом саду с листвой зеленоватой окраски в середине октября.

Ниже приведена табл. 3 со средними значениями параметров ЛПР-теста для каждой из пород в контрольном месте и в загрязненном. Табл. 3 соответствует средним значениям за ноябрь. Для каждого вида было произведено не менее 20 замеров. Замеры производились с частотой 2—3 раза в неделю. В табл. 4 приведены расшифровки некоторых параметров по данным ОЛПР-теста.

Похожим образом реагируют на стресс липа с елью, если обратить внимание на соотношение параметров Fo, Fj, Fi, Fm, ABS/RC, Dlo/RC — для контроля эти значения заметно ниже, чем для загрязненного района.

Таблица 3

Значения параметров ОЛПР-теста для контроля (Ботанический сад) и загрязненного района (Дмитровское шоссе)

Параметр	Дерево			
	Береза		Липа	
	Контр.	Загряз.	Контр.	Загряз.
Fo	21 303,714 ± 988,7	11 327,429 ± 2384,49	15 427 ± 2 292	21 311,167 ± 3 863,5
Fj	46 690,286 ± 3 943	24 378,286 ± 6 524,612	37 192,5 ± 2 763,5	41 570,667 ± 5 815,889
Fi	51 376,429 ± 5 201	27 290,429 ± 7 409,918	42 606 ± 2 357	47 531,167 ± 6 859,83
Fm	51 934 ± 5 046,571	27 870,857 ± 7 292,98	44 459 ± 699	49 145,667 ± 7 737,667
Fv	30 630,2857 ± 5 977	16 543,429 ± 4 990,612	29 032 ± 2 991	25 347,5 ± 9 063,333
Vj	0,832 ± 0,027	0,785 ± 0,02	0,74 ± 0,098	0,738 ± 0,075
Vi	0,9797 ± 0,011	0,959 ± 0,018	0,9295 ± 0,0645	0,944 ± 0,029
Fm/Fo	2,459 ± 0,3324	2,424 ± 0,227	2,954 ± 0,484	2,397 ± 0,421
Fv/Fo	1,459 ± 0,3324	1,424 ± 0,227	1,954 ± 0,484	1,397 ± 0,421
Fv/Fm	0,581 ± 0,06	0,582 ± 0,036	0,652 ± 0,057	0,563 ± 0,073
Mo	2,25 ± 0,079	1,7897 ± 0,116	1,917 ± 0,199	2,0395 ± 0,24
Area	9 170 127,857 ± 3 031 571,347	6 990 951,857 ± 1 744 342,939	14 542 749 ± 4 300 059	44 347 594,833 ± 50 725 219,056
Phi_Po	0,5814 ± 0,06	2 564 038,0757 ± 4 395 492,8355	0,652 ± 0,057	0,563 ± 0,073
Psi_o	0,167 ± 0,027	0,215 ± 0,02	0,26 ± 0,098	0,262 ± 0,075
Phi_Eo	0,0986 ± 0,021	0,125 ± 0,01539	0,164 ± 0,049	0,149 ± 0,047
Phi_Do	0,419 ± 0,06	0,379 ± 0,0794	0,348 ± 0,057	0,437 ± 0,073
Phi_Pav	988,4 ± 2,7	981,712 ± 3,6313	979,197 ± 10,469	983,198 ± 5,8
Pi_Abs	0,069 ± 0,027	0,1014 ± 0,0256	0,1575 ± 0,0245	0,119 ± 0,067
ABS /RC	4,743 ± 0,6	3,947 ± 0,394	4,03 ± 0,468	5,063 ± 0,778
Tro/RC	2,7 ± 0,06	2,282 ± 0,151	2,6015 ± 0,0755	2,766 ± 0,127
Eto/RC	0,45 ± 0,075	0,492 ± 0,056	0,6845 ± 0,2745	0,726 ± 0,198
Dlo/RC	2,04 ± 0,56	1,665 ± 0,292	1,4285 ± 0,3925	2,297 ± 0,7
	Туя		Ель	
	Контр.	Загряз.	Контр.	Загряз.
Fo	28 746,2 ± 8 704,96	15 440,3 ± 8 389,8	3 392 ± 1 230	13 037 ± 3 511,3
Fj	64 573,4 ± 16 348,96	39 105,667 ± 21 438,9	8 967,25 ± 2 631,25	33 313 ± 5 974,67
Fi	72 323,8 ± 18 655,92	41 852 ± 23 228	11 154,5 ± 3 019	36 488,3 ± 5 014,2
Fm	72 356,4 ± 18 682,16	41 887,667 ± 23 204,2	11 401,25 ± 3 016,75	38 655,3 ± 6 502,2
Fv	43 410,2 ± 11 304,08	26 447,3 ± 14 814,4	8 009,25 ± 1 897,75	25 618,3 ± 4 963,1
Vj	0,831 ± 0,0312	0,865 ± 0,081	0,69 ± 0,043	0,79767 ± 0,04
Vi	0,999 ± 0,00264	0,99833 ± 0,002	0,9665 ± 0,009	0,928 ± 0,054

Параметр	Дерево			
	Туя		Ель	
	Контр.	Загряз.	Контр.	Загряз.
Fm/Fo	2,553 ± 0,29256	2,72133 ± 0,054	3,5655 ± 0,48	3,15 ± 0,592
Fv/Fo	1,552 ± 0,29192	1,72133 ± 0,054	2,5655 ± 0,48	2,15 ± 0,592
Fv/Fm	0,601 ± 0,03744	0,63233 ± 0,008	0,71 ± 0,047	0,667 ± 0,073
Mo	2,493 ± 0,15696	2,16833 ± 0,372	1,3165 ± 0,241	2,026 ± 0,157
Area	22 427 584,6 ± ± 13 597 105,68	29 362 818 ± ± 29 169 640,67	2 937 391,25 ± ± 1 821 700,25	17 536 352,3 ± ± 10 855 511,8
Phi_Po	0,6014 ± 0,03744	0,6323 ± 0,008	0,71 ± 0,047	0,667 ± 0,073
Psi_o	0,169 ± 0,0312	0,135 ± 0,081	0,308 ± 0,043	0,202 ± 0,157
Phi_Eo	0,1034 ± 0,02744	0,086 ± 0,052	0,221 ± 0,043	0,138 ± 0,039
Phi_Do	0,3986 ± 0,03744	0,367667 ± 0,008	0,29 ± 0,047	0,333 ± 0,073
Phi_Pav	993,0624 ± 4,06936	989,38967 ± 2,26	976,142 ± 10,856	876,669147,243
Pi_Abs	0,0734 ± 0,04384	0,0826667 ± 0,067	0,4975 ± 0,188	0,166 ± 0,081
ABS/RC	5,0256 ± 0,47728	3,93633 ± 0,37	2,699 ± 0,526	3,875 ± 0,565
Tro/RC	2,9984 ± 0,13472	2,487333 ± 0,214	1,885 ± 0,213	2,537 ± 0,076
Eto/RC	0,5052 ± 0,07912	0,319 ± 0,16	0,568 ± 0,052	0,511 ± 0,092
Dlo/RC	2,027 ± 0,34224	1,44933 ± 0,158	0,815 ± 0,312	1,337 ± 0,49

Для липы разница между загрязненным районом и контрольным составляет около 5884 отн. ед. по Fo, около 4000 по Fj, около 5000 по Fi, 1 по ABS/RC, 0,8 по Dlo/RC. По Fv/Fm контрольный образец превышает загрязненный на 0,09, превышает незначительно также и по Eto/RC. У березы, наоборот, значения по Fo, Fj, Fi, Fm, ABS/RC, в контроле превышают значения загрязненного района почти вдвое, только по Eto/RC, Dlo/RC, Tro/RC имеет сходство с липой. Эти различия касаются средних значений для лиственных пород. Для хвойных (туи и ели) различия аналогичны, как и для лиственных пород (березы и липы), только разница ощутимее. У ели разница между контролем и загрязненным районом по Fo составляет почти 10 000 отн. ед., по Fj — более 20 000 отн. ед., по Fi — 25 000 отн. ед., по ABS/RC — 1,2 отн. ед, Mo — 0,7. У туи прослеживается тенденция превышений значений Fo, Fj, Fi, Fm, Fv, как и у березы (почти 1,5—2 раза), причем по Fv/Fm — значения близки (особенно у березы это заметно).

Увеличение параметра ABS/RC для чувствительных ели и липы может объясняться затрудненной адаптацией светособирающего комплекса к стрессу [4]. Увеличение Dlo/RC можно объяснить преобразованием реакционных центров в диссипативных поглотителей энергии возбуждения в стрессовых условиях [5]. Увеличение обоих параметров Tro/RC и Dlo/RC показывает, что инактивация реакционных центров приводит к ослаблению работы светособирающего комплекса и возрастанию рассеивания энергии в виде нефотохимического тушения [6]. Согласно табл. 3 уменьшение параметра Fo для ели и липы является их критерием чувствительности по отношению к загрязнению. Увеличение квантового выхода при переходе от контроля к загрязненным районам связано, скорее всего, с разным расходом энергии (возрастание в загрязненных условиях) при вступлении деревьев в покой.

В табл. 5 приведены значения нефотохимического и фотохимического тушения для различных пород в различных условиях произрастания. В темноте между вспышками фотохимическое тушение у всех пород примерно одинаковое и близко к единице. В режиме освещения значения различны для каждой породы. Для березы, например, при каждой новой насыщающей вспышке значения qP возрастают в загрязненном районе, в контроле остается почти без изменений и сами значения более низкие. Похожее явление прослеживается и для всех остальных пород.

Таблица 4

Расшифровка параметров ОЛП- теста [8]

Сокращенное название параметра	Разъяснение параметра и его формула
F_0	Начальный (постоянный) уровень флуоресценции (при 50 мкс)
F_j	Флуоресцентный уровень ступени J (при 1 мс) (характеризует долю закрытых реакционных центров к их общему количеству)
F_i	Флуоресцентный уровень ступени I (при 20 мс) (характеризует состояние пула хинонов)
F_m	Максимальная интенсивность флуоресценции
F_v	$F_v = F_m - F_0$ (максимальная переменная флуоресценция)
V_j	$V_j = (F_j - F_0) / (F_m - F_0)$ интенсивность относительной переменной флуоресценции на J-ступени
V_i	$V_i = (F_i - F_0) / (F_m - F_0)$ интенсивность относительной переменной флуоресценции на I-ступени
F_v / F_m	Квантовый выход
F_v / F_0	Способность светособирающего комплекса к улавливанию энергии возбуждения
M_0 или $(dV/dt)_0$	$M_0 = TR_0 / RC - E_0 / RC = 4 (F_{300} - F_0) / (F_m - F_0)$ — относительный угол наклона градиента флуоресценции
Area	Площадь между флуоресцентной кривой и F_m
Φ_{i_P0}	$\Phi_{i_P0} = 1 - (F_0 / F_m)$ (or F_v / F_m) — максимальный квантовый выход для первичных фотохимических реакций (при $t = 0$)
Ψ_0	$\Psi_0 = 1 - V_j$ — вероятность попадания экситона в электронтранспортную цепь через переносчик Q_a (при $t = 0$)
Φ_{i_E0}	$\Phi_{i_E0} = (1 - (F_0 / F_m)) \cdot \Psi_0$ — квантовый выход для электронного транспорта
Φ_{i_D0}	$\Phi_{i_D0} = 1 - \Phi_{i_P0} - (F_0 / F_m)$
Φ_{i_Pav}	$\Phi_{i_Pav} = \Phi_{i_P0} (SM / tFM)$, где tFM = время достижения F_m (мс)
ABS / RC	$ABS / RC = M_0 \cdot (1 / V_j) \cdot (1 / \Phi_{i_P0})$ соотношение размера антенны/активного реакционного центра фотосистемы 2
TR_0 / RC	$TR_0 / RC = M_0 \cdot (1 / V_j)$ поглощенная энергия квантового потока, проходящего через реакционный центр (при $t = 0$)
E_0 / RC	$E_0 / RC = M_0 \cdot (1 / V_j) \cdot \Psi_0$ поток транспорта электронов через реакционный центр (при $t = 0$)
DIO / RC	$DIO / RC = (ABS / RC) - (TR_0 / RC)$ поток энергии рассеяния через реакционный центр (при $t = 0$)

Интересно заметить, что кривая ОЛП находится тем ниже, чем больше загрязнение воздуха, и при этом характер ее развития более пологий (рис. 3). На рис. 3 показаны серии из пяти кривых быстрой индукции флуоресценции для двух различных по степени загрязнения районах — район Ботанического сада и район рядом с ТЭЦ-21. Видно, что вблизи ТЭЦ характер почти у всех кривых носит пологий характер с едва различимыми ступенями J и I. Максимумы ступеней сильно снижены. На центральной алее Ботанического сада РАН все кривые имеют четко выраженные ступени. Падение F_m при высоком загрязнении может объясняться возрастанием количества закрытых реакционных центров фотосистемы 2, которые не участвуют в процессе переноса электронов по цепи [8].

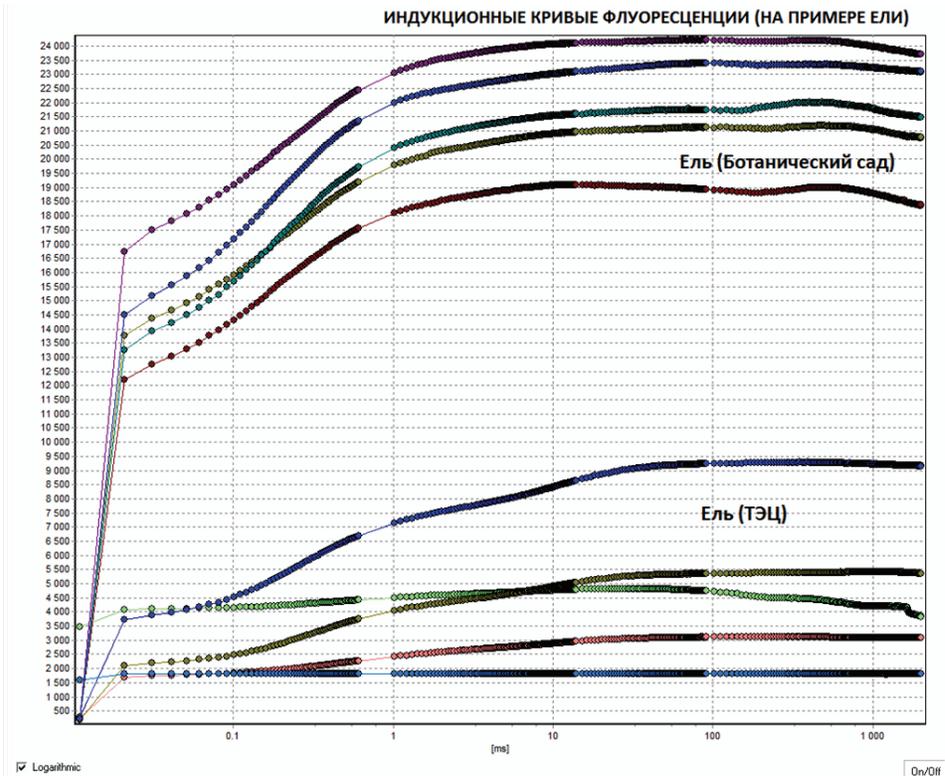


Рис. 3. Сравнение двух наборов индукционных кривых флуоресценции, полученных в октябре 2013 г. (на примере двух елей, произрастающих в районе функционирования ТЭЦ-21 и на центральной аллее Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН)

Вернемся к табл. 5 и рассмотрим характер изменения нефотохимического тушения. Нефотохимическое тушение объясняется рассеиванием избытка той энергии, которая не израсходовалась при фотосинтезе. Если параметр qP почти не менялся в «темновых паузах» между вспышками, то NPQ заметно снижается. Это касается темновой фазы регистрации флуоресценции, а при постоянном освещении при каждой новой вспышке данный параметр возрастает последовательно для лиственных пород (контрольная и загрязненная территории). Для хвойных пород вначале увеличивается (см. гр. до № 3 световой фазы в табл. 5), затем снижается (№ 4) и вновь поднимается (№ 5) до максимального значения. Это касается контрольных деревьев: туй и ели. Для загрязненных районов у хвойных образцов значение нефотохимического тушения также последовательно увеличивается. Значения нефотохимического тушения березы в контрольном участке и в загрязненном почти одинаковые. Заметна лишь разница для остальных пород (в контроле значение выше, что возможно связано с тем, что растения в загрязненных местах несколько позже вступают в покой или деревья в контроле более старые). Заметно разнятся деревья в контрольном и загрязненном участке по параметру Rfd , который иначе называют коэффициентом спада флуоресценции.

$$Rfd = (Fm - Fs)/Fs, \quad (3)$$

где Fm и Fs — соответственно максимальный и стационарный уровни флуоресценции, получаемые из фотоиндукционных кривых.

Наряду с Q_{\max} этот показатель хорошо применять для оценки стрессоустойчивости растения. Интересно, что в табл. 5 ель в загрязненном и контрольном участках по QY слабо различается, а по индексу Rfd заметно (причем значение Q_{\max} в загрязненном месте даже чуть выше для ели, а Rfd ниже на 0,12 ед.).

Таблица 5

Параметры фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции

Параметр	Фаза	№ насыщ. вспыш	Береза (контр.)	Береза (загряз.)	Липа (контр.)	Липа (загряз.)	Туя (контр.)	Туя (загряз.)	Ель (контр.)	Ель (загряз.)	
NPQ	На свету	1	0,0314 ± ±0,015	0,107 ± ±0,0152	0,013±0,004	0,02±0,007	0,0214±0,016	0,034 ±0,0192	0,0585 ± ±0,03	0,027 ± ±0,0089	
		2	0,231 ± ±0,0816	0,28 ± ±0,02257	0,173 ± ±0,0115	0,0467 ± ±0,02	0,192 ± ±0,112	0,062 ± ±0,0264	0,304 ± ±0,0246	0,082 ± ±0,051	
		3	0,4228 ± ±0,121	0,45 ± ±0,277	0,28 ± ±0,14	0,133 ± ±0,045	0,611 ± ±0,36	0,12 ± ±0,088	0,51 ± ±0,033	0,141 ± ±0,096	
		4	0,5685 ± ±0,149	0,564 ± ±0,315	0,33 ± ±0,182	0,19 ± ±0,073	0,555 ± ±0,176	0,184 ± ±0,0992	0,417 ± ±0,151	0,227 ± ±0,153	
		5	0,678 ± ±0,175	0,64 ± ±0,0337	0,38±0,2467	0,25±0,1067	0,68±0,228	0,244±0,1088	0,848±0,611	0,324±0,182	
	В темноте	1	0,677 ± ±0,148	0,594 ± ±0,273	0,35 ± ±0,2	0,2167 ± ±0,089	0,718 ± ±0,175	0,206 ± ±0,0632	0,4357 ± ±0,204	0,372 ± ±0,2469	
		2	0,392 ± ±0,0959	0,337 ± ±0,1587	0,223 ± ±0,12	0,11 ± ±0,053	0,478 ± ±0,021	0,106 ± ±0,0472	0,358 ± ±0,169	0,438 ± ±0,369	
		3	0,254 ± ±0,051	0,23 ± ±0,0113	0,16 ± ±0,0867	0,093 ± ±0,051	0,32 ± ±0,062	0,08 ± ±0,044	0,282 ± ±0,139	0,537 ± ±0,4681	
	qP	На свету	1	0,0214 ± ±0,001	0,034 ± ±0,0023	0,053 ± ±0,004	0,113 ± ±0,091	0,047 ± ±0,012	0,062 ± ±0,0336	0,11 ± ±0,114	0,05 ± ±0,034
			2	0,0257 ± ±0,001	0,0485 ± ±0,004	0,04 ± ±0,0067	0,123 ± ±0,0978	0,05 ± ±0,011	0,058 ± ±0,0304	0,057 ± ±0,039	0,0385 ± ±0,019
3			0,0257 ± ±0,001	0,058 ± ±0,0049	0,043 ± ±0,0089	0,1967 ± ±0,189	0,074 ± ±0,01	0,066 ± ±0,0288	0,06 ± ±0,0428	0,044 ± ±0,022	
4			0,0257 ± ±0,017	0,0714 ± ±0,065	0,043 ± ±0,089	0,18 ± ±0,18	0,06 ± ±0,013	0,068 ± ±0,0304	0,062 ± ±0,052	0,041 ± ±0,024	
5			0,025 ± ±0,0022	0,084 ± ±0,0063	0,073 ± ±0,0045	0,33 ± ±0,03267	0,077 ± ±0,028	0,084 ± ±0,0432	0,742 ± ±0,057	0,0457 ± ±0,029	
В темноте		1	0,988 ± ±0,038	1,034 ± ±0,005	0,9467 ± ±0,051	0,83 ± ±0,153	0,921 ± ±0,099	0,934 ± ±0,0272	0,882 ± ±0,093	0,958 ± ±0,044	
		2	1,054 ± ±0,006	1,05 ± ±0,005	0,9967 ± ±0,037	0,843 ± ±0,1689	1,04 ± ±0,06	0,982 ± ±0,0256	0,94 ± ±0,1	1,02 ± ±0,074	
		3	1,048 ± ±0,057	1,04 ± ±0,004	0,9967 ± ±0,031	0,91 ± ±0,08	1,034 ± ±0,036	0,99 ± ±0,024	0,945 ± ±0,09	1,027 ± ±0,1	
Q_{\max}		0,697 ± ±0,0546	0,6657 ± ±0,047	0,7367 ± ±0,004	0,4767 ± ±0,211	0,7 ± ±0,042	0,71 ± ±0,036	0,71 ± ±0,067	0,75 ± ±0,037		
Rfd		0,741 ± ±0,1759	0,594 ± ±0,192	0,593 ± ±0,0689	0,267 ± ±0,1156	0,691 ± ±0,2	0,29 ± ±0,112	0,46 ± ±0,175	0,341 ± ±0,161		

На рис. 4, 5 отображены световые кривые для параметров QY и Ft , соответственно. Сравняются между собой береза и ель, произрастающие рядом с шоссе и вблизи ТЭЦ. Особенно сильно подавлена береза, так как значения QY очень низкие. Кроме действия ТЭЦ, данная порода постоянно подвергается сильному ЭМИ от ЛЭП, находящейся прямо над ней. Ель расположена подальше от ЛЭП.

По Ft , наоборот, в контрастно более загрязненном месте возле ТЭЦ значения показателя для деревьев выше.

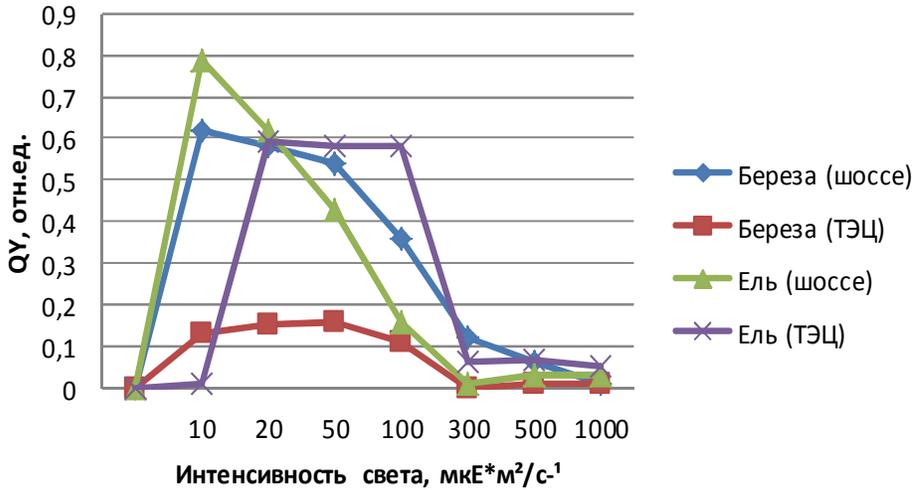


Рис. 4. Световые кривые по QY для деревьев в различных по степени загрязнения районах Москвы в октябре 2013 г.

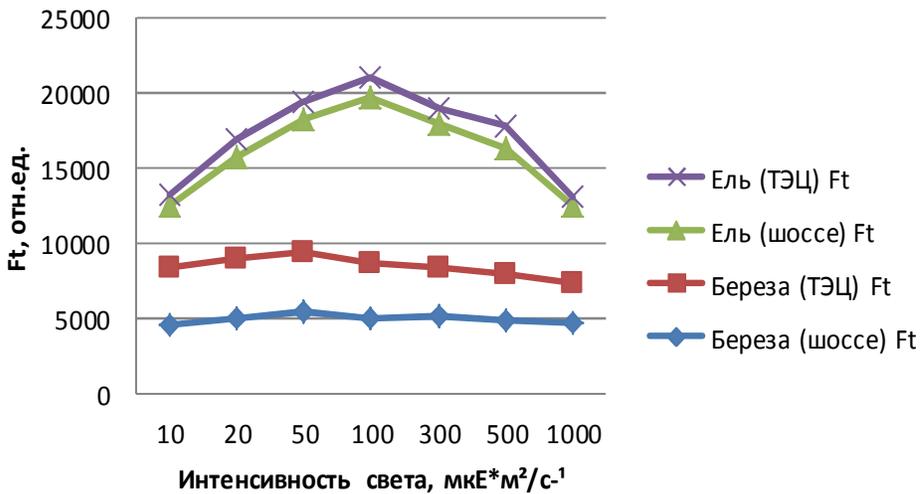


Рис. 5. Световые кривые по Ft для деревьев в различных по степени загрязнения районах г. Москвы

Фотохимические процессы, такие как окисление хлорофилла в реакционном центре, и фотофизические процессы, такие как флуоресцентная эмиссия, проходят с определенной эффективностью или выходом. Для более детального описания этих процессов существуют различные параметры флуоресценции, по изменениям которых можно детально проследить за изменением состояния растения. В частности, по параметрам флуоресценции можно оценивать различное влияние загрязнения разных факторов на состояние деревьев. Наиболее информативными параметрами являются: квантовый выход (QY), величина начальной флуоресценции (F_0),

индекс «стрессоустойчивости» растения (*Rfd*), соотношение размера антенны/активного реакционного центра фотосистемы 2 (*ABS/RC*), фотохимическое тушение (*qP*), нефотохимическое тушение (*NPQ*) и др. По данным параметрам удалось проанализировать различное состояние деревьев, находящихся в различных условиях загрязнения. По характеру индукционных кривых наиболее чувствительными породами из числа исследуемых оказались липа и ель. Особенно высокая чувствительность ели продемонстрирована на примере сравнения вблизи с дорогой и рядом с ТЭЦ. У ели наблюдаются более низкие по сигналу флуоресценции ОЛП кривые и более пологий их характер развития. Световые кривые также выявляют высокую чувствительность пород к загрязнению. Особенно большое значение на подавление физиологического состояния березы оказывало одновременное воздействие фактора загрязнения дороги, ТЭЦ и ЛЭП, проходящих над березой, что и выявляли параметры флуоресценции.

Безусловно, современные флуоресцентные методы можно рассматривать как наиболее перспективные для дальнейшего изучения и анализа влияния различных негативных факторов на физиологическое состояние деревьев в условиях мегаполиса Москвы.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Jeremy Harbinson and Eva Rosenqvist*. An introduction to chlorophyll fluorescence, Netherlands, Denmark, 2003.
- [2] *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.
- [3] *Melis A.* *Biochim. Biophys. Acta.* 1985. Vol. 808. P. 334—342.
- [4] *Adams W.W. and B. Demmig-Adams.* Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. In: Papageogiou, G. Govindjee (ed.), *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis* // *Adv. Photosynth. Respiration.* 2004. 19. p. 583—604.
- [5] *Tevini M., Grusemann P. and Fieser G.* Assessment of UVBR stress by chlorophyll fluorescence analysis. In: *Lichtenthaler H.K. (ed.) Application of Chlorophyll Fluorescence.* P. 229—238. Kluwer Academic Publications, The Netherlands, 1998.
- [6] *Nussbaum S., Geissmann M., Eggenberg P., Strasser R.J. and Fuhrer J.* Ozone sensitivity in herbaceous species as assessed by direct and modulated chlorophyll fluorescence techniques // *J. Plant Physiol.* 2001. 158. p. 757—766.
- [7] *Strasser R.J., Srivastava A. and Tsimilli-Michael M.* The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation* (M. Yunus, U. Pathre and P. Mohanty, eds.), Taylor and Francis, UK, 2000. Chapter 25. P. 445—483.
- [8] *Toth S.Z., Schansker G. and Strasser R.J.* In intact leaves, the maximum fluorescence level (FM) is independent of the redox state of the plastoquinone pool: a DCMU-inhibition study // *Biochim. Biophys. Acta.* 2005. 1708. P. 275—282.

FLUORESCENCE ANALYSIS OF CHLOROPHYLL AS AN INDICATOR OF PHYSIOLOGICAL STATE OF TREES IN VARIOUS POLLUTION CONDITIONS OF MOSCOW

D.I. Orekhov, G.A. Kalabin

Ecological faculty
Peoples' Friendship University of Russia
Podolskoe shose, 8/5, Moscow, Russia, 113093

In the article are considered the study of fundamental changes in the parameters of fluorescence of the photosynthetic apparatus of trees (birch, linden, thuja, fir), in different conditions of pollution in the Moscow. The content of article focuses on the monitoring of stress in the different environments and uses analysis by JIP-test, the light curves and non-photochemical quenching, etc. The content of this article will demonstrate the possibility of the technique and will hopefully encourage the development of new uses that are not reported in other articles.

Key words: fluorescence, chlorophyll, nonphotochemical quenching, photosynthesis, quantum yield, Kautsky effect.