



DOI: 10.22620/agrisci.2010.04.001

**ТЕМПЕРАТУРНОИНДУЦИРАНИ ПРЕХОДИ ВЪВ ФОТОСИНТЕТИЧНИЯ АПАРАТ НА ФАСУЛЕВИ РАСТЕНИЯ,
ИЗСЛЕДВАНИ ПО ПАРАМЕТРИТЕ НА JIP ТЕСТА**
**TEMPERATURE-INDUCED TRANSITIONS IN PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF BEAN PLANTS PROBED BY
JIP-TEST**

Василий Голцев^{1*}, Иван Йорданов², Мария Гурманова¹, Иван Пешев¹, Рето Йорг Страсер³
Vasilij Goltsev^{1*}, Ivan Yordanov², Maria Gurmanova¹, Ivan Peshev¹, Reto Jorg Strasser³

¹СУ "Св. Климент Охридски", Биологически факултет, София

²Институт по Физиология на растенията „Методи Попов“, БАН, София

³Лаборатория по биоенергетика, Женевски университет, Женева, Швейцария

¹St. Kliment Ohridski University of Sofia, Faculty of Biology, Sofia, Bulgaria

²Methody Popov Institute of Plant Physiology, BAS, Sofia, Bulgaria

³Bioenergetics Laboratory, University of Geneva, Jussy-Geneva, Switzerland

***Email: goltsev@biofac.uni-sofia.bg**

Резюме

Реакцията на фотосинтетичния апарат на висшите растения към високо- и нискотемпературен стрес може да се анализира с помощта на JIP тест. Сегменти от първичните листа от декапитирани фасулеви растения са поставяни върху темперирана метална пластина на термоблок с температури 10, 5 и 0°C (нискотемпературен скок) или 30, 35, 37.5, 40, 42.5, 45, 47.5 и 50°C (високотемпературен скок) и в продължение на 20 min през 30 s са записвани 1-секундни OJIP криви на хлорофилната флуоресценция и сигнала разсейване на модулираната светлина при $\lambda=820$ nm. Всяка крива е подложена на JIP тест анализ за изчисляване на параметри, характеризиращи: квантовите ефективности на електронния поток във фотосистема II, във фотосистема I и в електрон-транспортната верига между двете фотосистеми; концентрацията на активните реакционни центрове на ФС II; електронният капацитет на електрон-транспортната верига, както и тотален параметър, характеризиращ производителността на първичните реакции във ФСА. Показано е, че нискотемпературният стрес временно понижава ефективността на фотосинтетичния електронен пренос, докато при високите температури (над 42.5°C) се развиват процеси на инактивация на фотосинтетичните реакции. Чувствителността на различните участъци на електрон-транспортната верига към високотемпературния стрес намалява в реда: РЦ на ФС II > ($Q_A - PQ$ пул) > ($PQ \cdot H_2 - PC - FC$ I – акцептори на ФС I). Като цяло изследването показва, че JIP тестът е информативен метод за оценка на динамиката на стресовата реакция и на състоянието на растението след стрес.

Abstract

The reaction of the photosynthetic apparatus in higher plants to high- and low-temperature stress could be analyzed using a JIP-test. Segments of primary leaves of decapitated bean plants were placed on a metal surface at temperatures 0°, 5° and 10°C (low-temperature jump) or 30°, 35°, 37.5°, 40°, 42.5°, 45°, 47.5° and 50°C (high-temperature jump). One-second OJIP-transients of chlorophyll fluorescence and the simultaneous signal of modulated light scattering at $\lambda = 820$ nm with 30 s dark interval were recorded for 20 min. Each induction curve was subjected to the JIP-test analysis to calculate the parameters characterizing: the quantum efficiencies of the electronic flow in PS II, PS I and the electron transport chain between the two Photosystems; the concentration of the active reaction centers of PS II; the electron capacity of the electron transport chain and a total parameter characterizing the effects of the primary productivity in the photosynthetic apparatus. It was shown that the low-temperature stress temporary lowered the photosynthetic efficiency of the electron transport, while the high-temperature stress at temperatures above 42.5°C induced inactivation processes of the photosynthetic reactions. The sensitivity of the different sites of the electron transport chain to the heat stress decreased in the following order: (RC of PS II) > (Q_A -PQ-pool) > ($PQ \cdot H_2$ -PC-PS I-acceptors of PS I). A conclusion was made that the JIP-test is an informative means of evaluating the dynamics of the stress response and the plant state after stress.

Ключови думи: фотосинтеза, хлорофилна флуоресценция, JIP тест, високи и ниски температури, стрес при растения.

Key words: photosynthesis, chlorophyll fluorescence, JIP-test, high and low temperatures, plant stress.

УВОД

Растенията, като отворена термодинамична система, съществуват в условията на постоянно променяща се околна среда. Много често крайната продуктивност на отделно растение и посеви от растителни селскостопански култури се определя от наличните фактори на средата в периода на вегетация. В зависимост от силата на външното въздействие се определя и крайният ефект върху растителния организъм. Силни въздействия на различни биотични и абиотични фактори на средата са способни да предизвикат значителни структурни и функционални увреждания в растението. Същевременно нискоинтензивни фактори модифицират променливите функционални характеристики на растителната клетка, осигурявайки максимална ефективност на протичащите в организма процеси (Strasser et al., 2000). Фотосинтезата е най-важният енергетичен процес в растенията. Светлинните фотосинтетични реакции са извънредно чувствителни към промяната на външните условия, поради което те може да се използват като модел за изучаване на стресовата реакция на растенията. Страсер и сътрудници (Tsimilli-Michael and Strasser, 2008; Strasser et al., 2010; Голцев и сътр., 2010) са разработили подход за охарактеризиране на функционалното състояние на нативни растителни системи (цели растения *in vivo* и *in situ*), базиращ се на изучаване на фотоиндуцирани промени на хлорофилната флуоресценция в растителните тъкани, наречен JIP тест. Изхождайки от стойностите на флуоресценцията в основните характеристични точки на индукционната крива, може да се изчислят важни структурни и функционални параметри на фотосинтетичния апарат (ФСА) (Голцев и сътр., 2010):

- Φ_{Po} – квантов добив на първичната фотохимична реакция във фотосистема II (ФС II);
- Φ_{Eo} – квантова ефективност на преноса на електрон от редуцирания Q_A (първичния хионов акцептор на ФС II) към веригата от електронни преносители между двете фотосистеми;
- Φ_{Ro} – квантова ефективност на преноса на електрон от редуцирания пластохинон (PQ) през ФС I към нейните акцептори;
- RC/CSO – концентрация на активните реакционни центрове на ФС II, пресметната на единица площ;
- EC/RC – брой електронни преносители, обслужващи един активен реакционен център;
- PI_{ABS} – индекс на производителност на ФСА.

Температурата е един от най-важните фактори на околната среда, определящи функционирането на растенията. Влиянието на температурите (предимно повишени) върху функционирането на ФСА се изразява чрез промени в способността за кислородно отделяне (вж. напр. Nash et al., 1985; Enami et al., 1994) в

първичния електронен транспорт в тилакоидните мембрани (Frolec et al., 2008; Kouřil et al., 2004) или в асимилацията на въглероден диоксид (Crafts-Brandner and Salvucci, 2002; Lazăr et al., 2005).

В настоящата работа проследихме комплексната реакция на фотосинтетичния апарат в листа от фасулеви растения към високо- и нискотемпературен стрес по измененията в горепосочените параметри на JIP теста.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Отглеждане на растенията

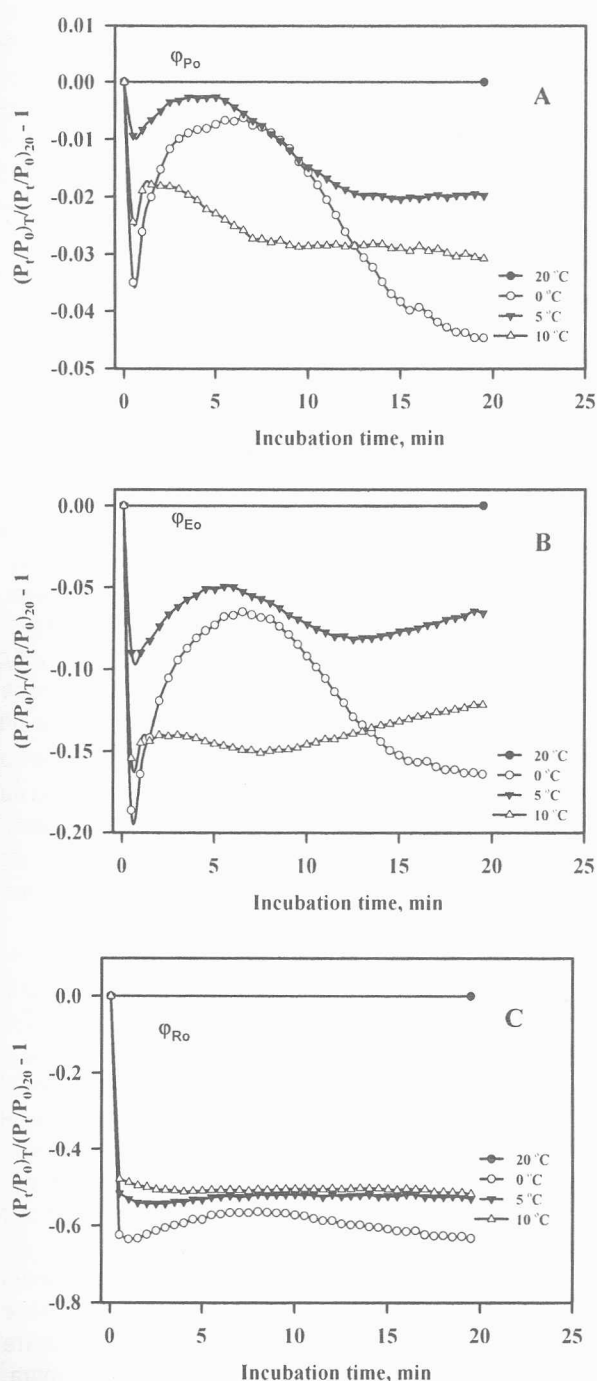
В експериментите са използвани откъснати листа от 20-25-дневни растения от фасул (*Phaseolus vulgaris* L.), сорт „Черен старозагорски“, отглеждани като водна култура в хранителен разтвор на Кноп във фитостатен бокс при температура 22-25°C, влажност 30-40%, денонощен режим светло/тъмно 12:12h и луминесцентно осветление с интензитет 250 $\mu\text{mol.s}^{-1}.\text{m}^{-2}$. В експериментите са използвани първични листа от декапитирани по метода на Yordanov et al. (2008) растения.

Работа с mPEA

Едновременната регистрация на фотоиндуцираните сигнали на бързата и забавената хлорофилна флуоресценция и промените в поглъщането при 820 nm е провеждана с апарата M-PEA (Multifunctional Plant Efficiency Analyzer), разработен и произведен от Hansatech Instruments Ltd. (King's Lynn, Norfolk, UK) (фиг. 1). Подробно описание на работата с апарата и начина на получаване на информацията от експерименталните данни вж. в Голцев и сътр. (2010) и Strasser et al. (2010).



Фиг. 1. Експериментална система за изследване на ефекта на „температурния скок“ върху лист
Fig. 1. Experimental setup for investigation of “temperature jump” effects on leaves



Фиг. 2. Динамика на термоиндуцираните преходи при рязко понижаване на температурата от 20°C до 0, 5 или 10°C в листа от фасул, отчетена по параметрите на JIP теста Φ_{P_0} , Φ_{E_0} и Φ_{R_0} . Листни сегменти са темперирани на тъмно в продължение на 1 h при 20°C върху влажна филтърна хартия, след което са поставяни в обектодържателя върху термостатирана метална пластина при избраната температура. След 30 s темпериране в продължение на 20 min е записвана серия от 40 (на всеки 30 s по 1 крива) последователни OJIP криви на хлорофилната флуоресценция. Всяка крива е с продължителност 1 s и е регистрирана при интензитет на възбуждащата светлина $5000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

Fig. 2. Dynamics of thermo-induced transients at temperature shift from 20°C to 0, 5 or 10°C in bean leaves, monitored by JIP test parameters Φ_{P_0} , Φ_{E_0} and Φ_{R_0} . Leaf segments are dark adapted during 1 h on wet filter paper and then are placed in leaf clip upon thermostatic metal plate with selected temperature. 40 successive OJIP transients of chlorophyll fluorescence separated by 30 s dark interval are recorded during 20 min. Every fluorescence induction curve was recorded during 1 s at actinic light intensity of $5000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

Промените в характеристиките на индукционните криви на хлорофилната флуоресценция, предизвикани от промяна на температурата на обекта, са изследвани с помощта на експериментална система, включваща флуориметър mPEA, термостатиращ блок, позволяващ поддържане върху работна масичка температура в диапазона от -10°C до +70°C.

Откъснат лист или сегмент от лист на фасулево растение след 1 h тъмнинна адаптация се поставя в обектодържател, осигуряващ контакт с повърхността на металната пластина на термостатиращия блок, с долната страна на листа върху контактната пластина. Температурата на пластината се регулира с точност $\pm 0.1^\circ\text{C}$. Работната глава на mPEA, закрепена върху подвижен статив, се поставя върху обектодържателя. Параметрите на JIP тест се анализират с помощта на флуориметъра mPEA.

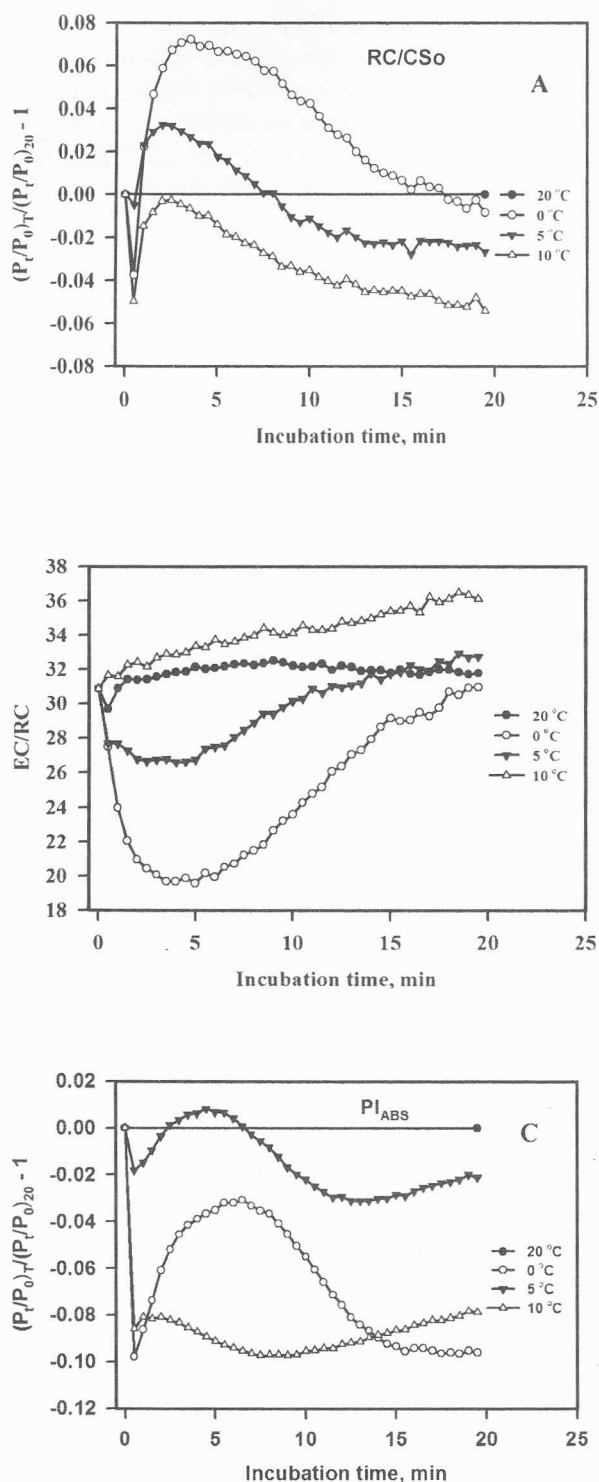
Протокол на измерването

30 s след поставянето върху темперираната пластина изследваният обект се осветява от серия от 40 светлинни импулса с продължителност по 1 s, интензитет $5000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ и 30 s тъмнинен интервал между отделните импулси. Анализирани са преходите, предизвикани от повишаването на температурата (от 20°C към 30, 35, 37.5, 40, 42.5, 45, 47.5 и 50°C) и в резултат на охлаждане (от 20°C към 10, 5 и 0°C). Регистрират се индукционните кинетики на бързата и забавената хлорофилна флуоресценция, както и разсейването на модулираната инфрачервена светлина с $\lambda = 820 \text{ nm}$.

За всяка индукционна крива на БФ се изчисляват квантовите добиви на електрон-транспортните реакции в реакционния център на ФС II (Φ_{P_0}), в акцепторната страна на ФС II (Φ_{E_0}) и между пластохиноновия пул и акцепторите на ФС I (Φ_{R_0}).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Целта на изследването бе да се анализира реакцията на фотосинтетичния апарат (ФСА) на растенията при прилагане на относително слаб стрес, непредизвикващ значителни структурни модификации



Фиг. 3. Динамика на термоиндуцираните преходи при рязко понижаване на температурата от 20°C до 0, 5 или 10°C в листа от фасул, отчетена по параметрите на JIP теста: RC/CSO – концентрация на активните реакционни центрове на ФС II, пресметната на единица площ; EC/RC – брой електронни преносители, обслужващи един активен реакционен център; PI_{ABS} – индекс на производителност на ФСА. Условия на експеримента – вж. фиг. 2

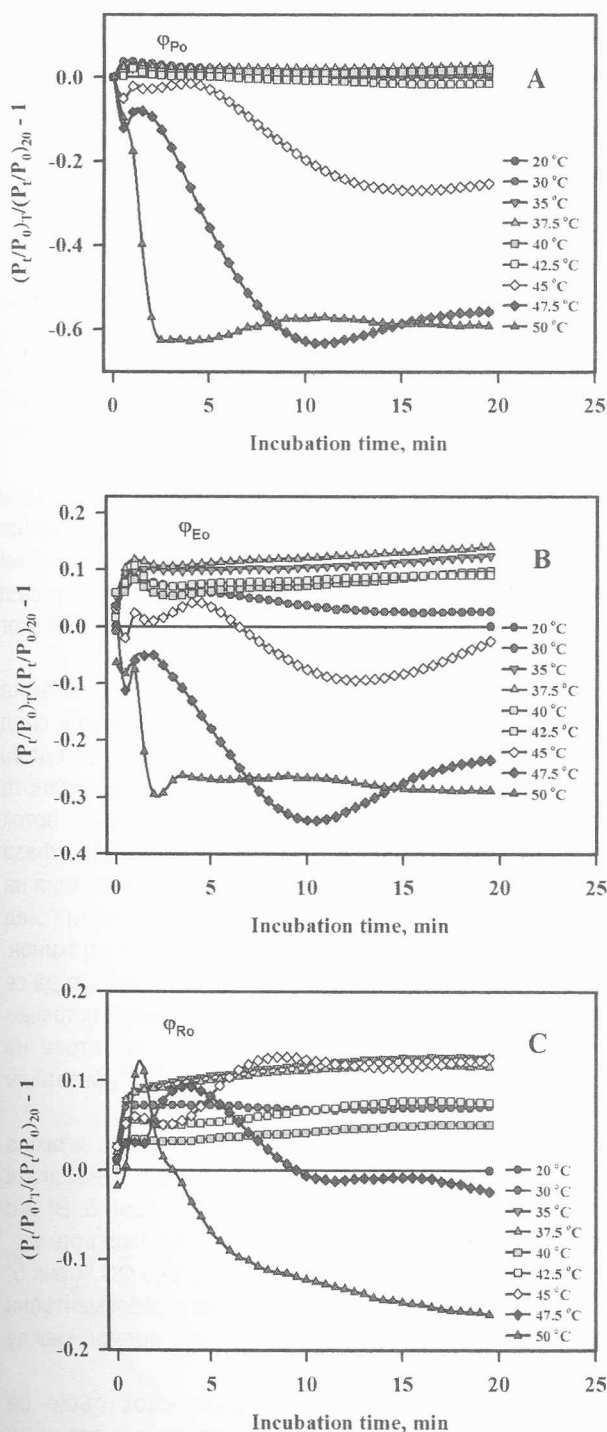
Fig. 3. Dynamics of thermo-induced transients at temperature shift from 20°C to 0, 5 or 10°C in bean leaves, monitored by JIP test parameters: RC/CSO – relative concentration of active PS II reaction centers, related to leaf area; EC/RC – number of electron carriers per one active reaction center; PI_{ABS} – PS II performance index. For details of experimental conditions see Fig. 2

и необратими увреждания на функциите на клетката. Искане да проследим възможността на растителната клетка да променя своите характеристики така, че да осигури оптималното си функциониране при новите условия (променена температура). За това листа от фасулеви растения бяха подложени на рязка промяна на температурата за 20 минути, през които на всеки 30 s са записвани индукционните криви на хлорофилната флуоресценция, от които са изчислявани параметри на JIP теста. На фиг. 2 са представени динамиките на стресовата реакция на ФСА при нискотемпературния скок, проследявани по квантовите ефективности на първичната фотохимична реакция в реакционния център на ФС II (Φ_{P_0}), на реокислението на $Q_A^-(\Phi_{Eq})$ и на окислението на пластохиноновия пул от ФС I и нейните акцептори (Φ_{R_0}).

Вижда се, че охлаждането рязко намалява квантовите ефективности на изследваните процеси, след което във ФСА настъпват адаптационни промени, предизвикващи известна компенсация на първоначалната инактивация. При слаби стресове, след двупосочни колебания, в системата се установява ново стационарно състояние. При големи стойности на температурния скок (20°C → 0°C) в продължение на 20-те минути, през които се провеждат наблюдения на системата, стационарно състояние не се установява. Това предполага, че в системата продължават да протичат по-бавни термоиндуцирани изменения, вероятно засягащи структурата на ФСА.

Промените в структурните характеристики на ФСА, предизвикани от понижаване на температурата, са анализирани по следните параметри: RC/CSO, отчитащ относителната концентрация на активните реакционни центрове на ФС II; EC/RC – брой електронни преносители, обслужващи един активен реакционен център; както и един комплексен параметър, обединяващ функционалните и структурните характеристики на ФСА – PI_{ABS} , индекс на производителност (Performance Index) на ФСА (вж. фиг. 3).

Поне три процеса, протичащи с различна скорост, определят динамиката на термоиндуцираните изменения на параметъра RC/CSO: бърз спад в рамките на първите 30 секунди след промяна на температурата, експоненциално покачване до междинна стационарна стойност за около 2 минути и бавен спад с характерно време от порядъка на 5-10 минути.



Фиг. 4. Динамика на термоиндуцираните преходи при рязко повишаване на температурата от 20°C до 30-50°C в листа от фасул, отчетена по параметрите на JIP теста Φ_{Po} , Φ_{Eo} и Φ_{Ro} . Условия на експеримента – вж. фиг. 2

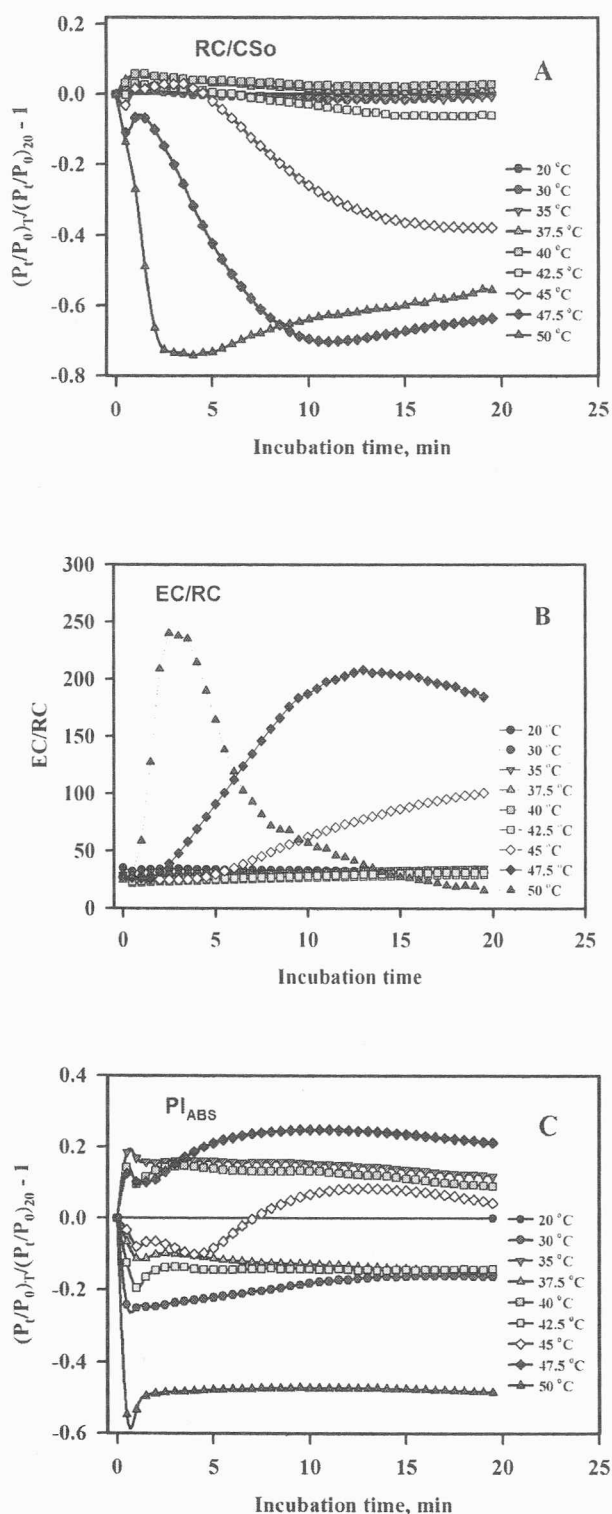
Fig. 4. Dynamics of thermo-induced transients at temperature shift from 20°C to 30-50°C in bean leaves, monitored by JIP test parameters Φ_{Po} , Φ_{Eo} and Φ_{Ro} . For details of experimental conditions see Fig. 2

Амплитудата на втората и третата фаза е пропорционална на стойността на температурния скок. Продължителното прилагане на температурното въздействие в крайна сметка води до намаляване на концентрацията на активните реакционни центрове.

За разлика от останалите параметри, които са представени в относителни величини спрямо контролата за прехода 20°C → 20°C, параметърът, характеризиращ броя електронни преносители, обслужващи един активен реакционен център на ФС II, е представен в абсолютни стойности. Даването на серия от последователни импулси без промяна на температурата на обекта (черните кръгчета) практически не променя броя на преносителите. Скокът на температурата до 5 и до 0°C предизвиква началното понижаване на капацитета на електронните преносители за всяка верига, което по динамика наподобява хода на втората фаза за параметъра RC/CSO. Това показва, че активацията на нови РЦ на ФС II при запазване на броя на преносителите в тилакоидната мембрана би могла да обясни първата фаза на намаляването на относителния брой на електронните преносители, обслужващи всеки реакционен център. Последващата бавна фаза на инактивация на РЦ се съпровожда с почти синхронно нарастване на параметъра EC/RC. Такова покачване може да бъде свързано и с включването на допълнителни електронни акцептори, шунтиращи линейния електронен транспорт (например аскорбат; Tóth et al., 2009).

Тотален параметър, характеризиращ промените както в структурата, така и във функционалното състояние на ФСА, е индексът на производителност PI_{ABS} (Strasser et al., 2004). Термоиндуцираните колебания на неговата стойност до голяма степен следват хода на промените в междусистемния електронен транспорт, тъй като те са най-чувствителни към нискотемпературния стрес (амплитудата на колебанията е около 20%).

За листа от фасулеви растения, отгледани при температура около 25°C, покачването на температурата от 20°C до 30-40°C не предизвиква инактивация на ФС реакции, а дори води до повишаване на квантовата ефективност и в трите изследвани участъка на електрон-транспортната верига (параметрите Φ_{Po} , Φ_{Eo} и Φ_{Ro}) (вж. фиг. 4). При инкубация на листа при температура 42,5°C над 5 min се наблюдава потискане на първичната фотохимична реакция Φ_{Po} , при 45°C започва да се потиска междусистемния електронен пренос, а електронният транспорт през ФС I се инактивира след 10 min инкубация при температурите над 47,5°C. Това представя градацията на термолерантността на различни участъци на линейния електронен транспорт. Трябва да се отбележи, че при



неинхибиращи повишени температури се активират електрон-транспортните реакции между двете фотосистеми и в още по-голяма степен – във ФС I.

Подобно поведение проявяват и структурните параметри (фиг. 5). При температурите над 42,5°C започват да се инактивират реакционните центрове на ФС II, при което всеки активен РЦ на ФС II започва да се „обслужва“ от по-голям брой преносители (вж. параметър EC/RC на фиг. 5, В). При 50°C след достигането на максимума на параметъра (след 3-4 минути инкубация) започва бързо спадане на стойностите му, вероятно отразяващо инактивация на електрон-транспортната верига преди пластохиноновия пул, която значително съкращава броя на електроните, необходими за пълната редукция на Q_A .

Едно допълнително потвърждаване на тази хипотеза идва от анализа на ефекта на температурния скок върху динамиката на сигнала на разсейването на модулираната светлина с $\lambda = 820$ nm, отразяващ окислително-редукционното ниво на P700 (Schansker et al., 2003) (фиг. 6).

При записване на MR_{820} при стайна температура в продължение на първите 10 ms след началото на осветяване на обекта се наблюдава спадане на сигнала, отразяващо фотоиндуцираното окисление на P700 поради липса на електронен поток от пластохиноновия пул към ФС I. Последващата фаза на покачване на сигнала свидетелства за редукция на окисления P700⁺ от редуцирания към този момент (след 30 ms фазата I-P на индукционната крива) пластохинон. Двете индукционни фази на MR_{820} сигнала могат да се използват като показател за функционалното състояние на ФС I (бързата фаза на спада) и за потока на електроните от ФС II през PQ пул към P700⁺ (фазата на бавното покачване).

При 50°C бавната фаза се инактивира за около 10 min (фиг. 6, В), което добре корелира с динамиката на понижаване на параметъра EC/RC (фиг. 5, В) и с термоиндуцираните промени на параметъра Φ_{Ro} , характеризиращ електронния пренос във ФС I (фиг. 5, С при 50°C). Това показва, че при тези експериментални условия се инактивира електронния пренос между $PQ.H_2$ и P700⁺.

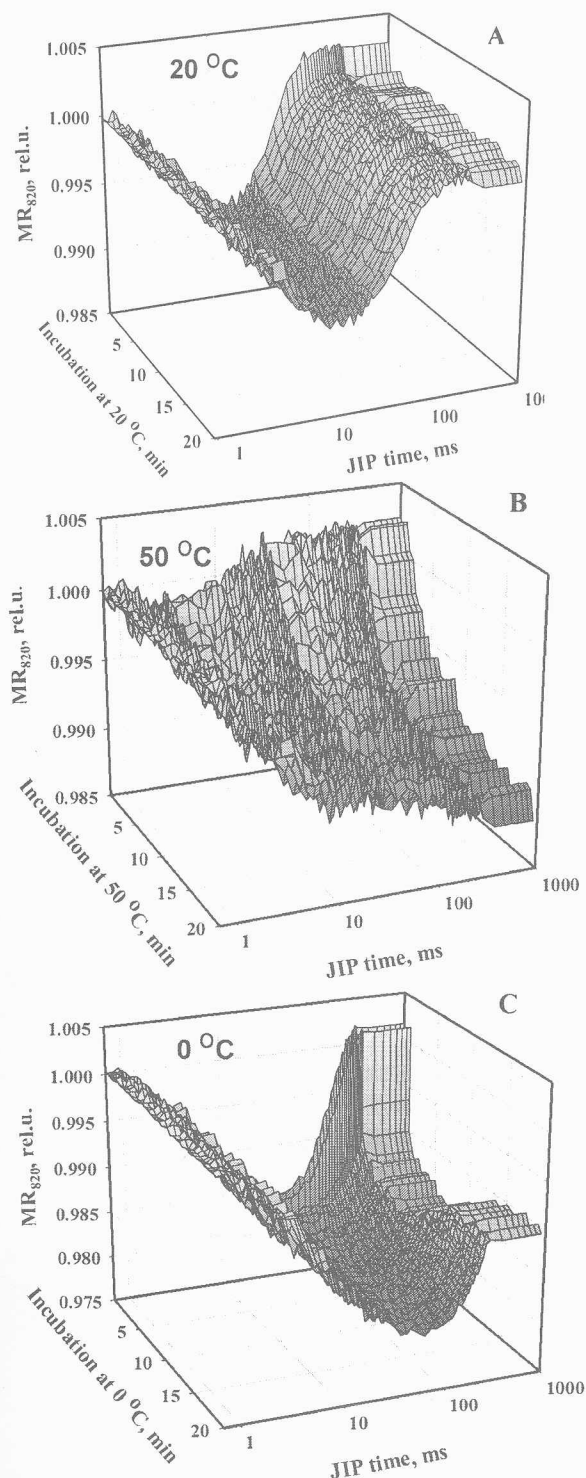
При нискотемпературния скок също се наблюдава бърза инактивация на този участък на електронния пренос (вж. фиг. 6, С), но след 10 минути този процес частично се възстановява.

Фиг. 5. Динамика на термоиндуцираните преходи при рязко повишаване на температурата от 20°C до 30-50°C в листа от фасул, отчетена по параметрите на JIP теста: RC/CS0 – концентрация на активните реакционни центрове на ФС II, пресметната на единица площ; EC/RC – брой електронни преносители, обслужващи един активен реакционен център; PI_{ABS} – индекс на производителност на ФСА. Условия на експеримента – вж. фиг. 2

Fig. 5. Dynamics of thermo-induced transients at temperature shift from 20°C to 30-50°C in bean leaves, monitored by JIP test parameters: RC/CS0 – relative concentration of active PS II reaction centers, related to leaf area; EC/RC – number of electron carriers per one active reaction center; PI_{ABS} – PS II performance index. For details of experimental conditions see Fig. 2

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Температурите в диапазона от 0 до 50°C са обичайни за вегетацията на растителните култури в България и растенията са способни да издържат кратковременни въздействия. Същевременно рязка промяна на температурата след продължително темпериране при 20°C до по-висока (30-50°C) или до по-ниска (10-0°C) предизвиква сложна реакция във ФСА на растенията, целяща да се адаптира растителната клетка към новите условия на функциониране. Прилагайки JIP тест, ние можем да проследим състоянието на ФСА в различни моменти, като наблюдаваме квантовите ефективности на електронния поток във ФС II, ФС I и в електрон-транспортната верига между двете фотосистеми; концентрацията на активните реакционни центрове на ФС II; електронния капацитет на електрон-транспортната верига; както и тотален параметър, характеризиращ производителността на първичните реакции във ФСА. Чрез параметрите на JIP теста ние анализирахме стресовата реакция на фотосинтетичния апарат при рязка промяна на температурата на първичните листа от декапитирани фасулеви растения. В продължение на 20 min е проследена динамиката на преходи, индуцирани от ниско- и високотемпературен скок. Фотосинтетичният апарат показва сложна динамика на прехода, зависеща от посоката и температурната разлика на скока. При нискотемпературното въздействие бързо се понижава ефективността на електронния пренос във всички анализирани участъци, след което протичат процеси, компенсиращи това намаление. При рязко нагряване до температури до 42.5°C се наблюдава повишаване на ефективността на електронния пренос, а при високи температури се развиват процеси на инактивация на фотосинтетичните реакции. Чувствителността на различните участъци на електрон-транспортната верига към високотемпературния стрес намалява в реда: РЦ на ФС II > (Q_A -PQ пул) > (PQ.H₂-PC-ФС I- акцептори на ФС I). Анализът на сигнала на разсейването на инфрачервената светлина (820 nm) показва различието между реакциите на ФСА към високо- и нискотемпературния стрес. При високите температури се инактивира връзката между двете фотосистеми, като ФС I остава функционална дори след 20-минутно въздействие с максималната използвана



Фиг. 6. Динамики на термоиндуцираните преходи при рязка промяна на температурата от 20°C до 50°C (B) или до 0°C (C) в листа от фасул, регистрирани по фотоиндуцираното разсейване на модулираната инфрачервена светлина с $\lambda = 820$ nm (MR_{820}). За сравнение на панел A е представена 3D графика на 40 последователни измервания на сигнала при 820 nm при температура 20°C. Сигналят на MR_{820} се регистрира едновременно с индукционната крива на хлорофилната флуоресценция. Условия на експеримента – вж. фиг. 2

Fig. 6. Dynamics of thermo-induced transients at temperature shift from 20°C to 50°C (B) or to 0°C (C) in bean leaves, monitored by modulated reflection of light at $\lambda = 820$ nm (MR_{820}). For compare, the 3D view of a series of 40 successive recordings of MR_{820} signal at 20°C is presented in panel (A). The MR_{820} signal was recorded simultaneously with the chlorophyll fluorescence transients.

For details of experimental conditions see Fig. 2

температура (50°C). Нискотемпературният стрес (преход 20°C → 0°C) предизвиква временна инактивация на междусистемния електронен пренос, който се възстановява към 20-та минута на въздействието.

Изследването показва, че JIP тестът е информативен метод за оценка на динамиката на стресовата реакция и на състоянието на растението след стрес.

ЛИТЕРАТУРА

- Голцев, В., Йорданов И., Гурманова М., Кузманова М., Дамбов Щ., Апостолова С., Савова Г., Страсер Р. Й., 2010. Възможности на новия мултифункционален анализатор на ефективността на растенията за изследване на функционалното състояние на фотосинтетичния апарат. – Аграрни науки, 4, 15-25.
- Crafts-Brandner, S. J., Salvucci E. M., 2002. Sensitivity of photosynthesis in a C4 plant, maize, to heat stress. – Plant Physiol, 129, 1773–1780.
- Enami, I., Kitamura M., Tomo T., Isokawa Y., Ohta H., Katoh S., 1994. Is the primary cause of thermal inactivation of oxygen evolution in spinach PS-II membranes release of the extrinsic 33 kDa protein or of Mn? – Biochim Biophys Acta, 1186, 52–58.
- Frolec, J., Ilík P., Krchňák P., Sušila P., Nauš J., 2008. Irreversible changes in barley leaf chlorophyll fluorescence detected by the fluorescence temperature curve in a linear heating/cooling regime. – Photosynthetica, 46, 537–546.
- Kouřil, R., Lazár D., Ilík P., Skotnica J., Krchňák P., Nauš J., 2004. Hightemperature induced chlorophyll fluorescence rise in plants at 40–50°C: experimental and theoretical approach. – Photosynth Res, 81, 49–66.
- Lazár, D., Kaňa R., Klinkovský T., Nauš J., 2005. Experimental and theoretical study on high temperature induced changes in chlorophyll a fluorescence oscillations in barley leaves upon 2% CO₂. – Photosynthetica, 43, 13–27.
- Nash, D., Miyao M., Murata N., 1985. Heat inactivation of oxygen evolution in photosystem II particles and its acceleration by chloride depletion and exogenous manganese. – Biochim Biophys Acta, 807, 127–133.
- Strasser, R. J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M., 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. – In: M. Yunus, U. Pathre, P. Mohanty (Eds.), Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation, Taylor and Francis, London, UK, pp. 443–480.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael M., Qiang S., Goltsev V., 2010. Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820 nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. – Biochim Biophys Acta, 1797, 1313–1326.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A., 2004. Analysis of chlorophyll a fluorescence transient. – In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds) Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis. Springer, Dordrecht, pp. 321–362.
- Schansker, G., A. Srivastava, Govindjee, R. J. Strasser, 2003. Characterization of 820 nm transmission induction curves in pea leaves: kinetic separation between plastocyanin and P700 contributions. – Funct. Plant Biol. 30, 1–10.
- Tóth, S. Z., Puthur J. T., Nagy V., Garab G., 2009. Experimental evidence for ascorbate-dependent electron transport in leaves with inactive oxygen-evolving complexes. – Plant Physiol, 149, 1568–1578.
- Tsimilli-Michael, M., Strasser R. J., 2008. *In vivo* assessment of plant's vitality: applications in detecting and evaluating the impact of Mycorrhization on host plant's. – In: A. Varma (Ed.), Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics, 3rd edition, Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 679–703.
- Yordanov, I., Goltsev V., Stefanov D., Chemev P., Zaharieva I., Kirova M., Gecheva V., Strasser R. J., 2008. Preservation of PS II Electron Transport from Senescence-Induced Inactivation in Primary Leaves after Decapitation and Defoliation of Bean Plants. – J. Plant Physiol., 165 (18) 1954–1963.

Работата е изпълнена благодарение на финансовата подкрепа на Националния фонд за научни изследвания – МОН (проект № DO 02-137/15.12.2008).

Статията е приета на 12.07.2010 г.
Рецензент – доц. д-р Невена Стоева
E-mail: stoeva_au_bg@yahoo.ca