УДК 535.372.2

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ФЛУОРИМЕТРИИ НАСЫЩЕНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ РАЗГОРАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *a* ФИТОПЛАНКТОНА ПРИ НЕДОСТАТКЕ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

М. Ю. Горбунов, В. В. Фадеев, А. М. Чекалюк

(кафедра квантовой радиофизики)

Показано, что увеличение интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* фитопланктона при недостатке минерального питания включает две компоненты. Первая компонента, относительная величина которой в общем изменении интенсивности флуоресценции составляет 60—75%, имеет рекомбинационную природу и обусловлена нарушением транспорта электрона в реакционном центре фотосистемы 2 (РЦ ФС 2) между промежуточным акцептором Pheo и первым хиноновым акцептором Q_A. Вторая, нерекомбинационная компонента, связана с ослаблением связи между светособирающей антенной и РЦ ФС 2 или нарушением транспорта электронов между первичным донором P680 и Pheo. Показано, что недостаток минерального питания приводит также к появлению небольшого количества неактивных РЦ ФС 2 с нарушенным переносом электрона от Q_A к вторичному хиноновому акцептору Q_B.

1. Введение

Эффективность флуоресценции хлорофилла *a* фотосинтезирующих организмов, представителями которых являются и водоросли, может сильно варьироваться при изменении освещенности, стадии роста клеток, условий минерального питания и других факторов [1, 2]. В частности, было обнаружено [3—7], что недостаток различных элементов минерального питания, таких, как N, P, Mn, Cu, Fe и др., вызывает снижение эффективности фотосинтеза и возрастание квантового выхода флуоресценции хлорофилла *a*, которое сопровождается появлением медленной компоненты в кинетике затухания флуоресценции со временем жизни около 3 нс [4], отсутствующей у контрольных клеток и характерной для максимального уровня флуоресценции Φ_{max} при восстановленном первичном акцепторе Q_A реакционного центра фотосистемы 2 (РЦ ФС 2) [2, 8]. В результате выход флуоресценции хлорофилла *a* может увеличиться в 2—4 раза.

Исследование особенностей и механизмов этого явления представляется важным по двум причинам. Во-первых, эти работы могут способствовать получению новой информации о первичных стадиях фотосинтеза, которые сопровождаются возникновением флуоресценции хлорофилла *a in vivo* [1, 2]. Во-вторых, результаты этих исследований необходимы для корректного решения задач флуоресцентной диагностики фотосинтезирующих организмов и оценки параметров биологической продуктивности водных сред [9—12].

В данной работе сообщается о применении метода импульсной лазерной флуориметрии насыщения для исследования механизмов разгорания флуоресценции хлорофилла *a* при недостатке минерального питания фитопланктона.

2. Эффект разгорания флуоресценции

Флуоресценция хлорофилла *a in vivo* включает, как известно [1, 2], две компоненты различной природы — так называемые «постоянную» (Φ_0) и «переменную» (Φ_v). Первая компонента обусловлена флуоресценцией молекул хлорофилла *a* светособирающей антенны (ССА), возникающей в процессе миграции экситонов к РЦ ФС 2. Выход постоян-

ной флуоресценции определяется эффективностью этого процесса и не зависит от функционирования РЦ ФС 2 и электронно-транспортной цепи. Переменная флуоресценция Φ_v возникает в результате рекомбинации первично разделенных зарядов в закрытых или неактивных РЦ ФС 2: $P680^+Pheo^- \rightarrow P680^*Pheo$, где P680 и Pheo — первичный донор и промежуточный акцептор РЦ ФС 2 [2, 13]. Величина переменной флуоресценции зависит от относительной концентрации закрытых РЦ ФС 2. Как следствие, измеренная при слабом (например, ламповом) фотовозбуждении величина отношения Φ_v/Φ_0 составляет 0—0,2 для клеток в хорошем функциональном состоянии и возрастает до 2—3 для клеток с закрытыми РЦ ФС 2 [2].

Причиной разгорания флуоресценции хлорофилла *a in vivo* при недостатке минерального питания может быть как увеличение количества неактивных РЦ ФС 2 и, следовательно, возрастание переменной флуоресценции Φ_v [4], так и снижение эффективности миграции экситонов от ССА к РЦ ФС 2 [4, 5] и соответствующее повышение уровня постоянной флуоресценции Φ_0. Ряд фактов свидетельствует в пользу первой возможности. При фотоингибировании фотосинтеза сильным светом, которое увеличивает вероятность безызлучательного тушения возбуждений в РЦ ФС 2 [14], высокий выход флуоресценции голодных клеток снижается до исходной величины, характерной для нормальных клеток [4]. На основании этого авторы [4] сделали предположение о том, что большинство квантов, поглощаемых ССА, достигает РЦ ФС 2. О рекомбинационной природе увеличения флуоресценции голодных клеток свидетельствует также сокращение времени нарастания переменной флуоресценции Φ_v (в присутствии диурона) при недостатке минерального питания [15].

В то же время полученные в [4, 5, 7] результаты позволили авторам этих работ предположить, что разгорание флуоресценции хлорофилла при недостатке минерального питания водорослей может быть также обусловлено нарушением переноса энергии возбуждений от ССА к РЦ ФС 2 и, как следствие, усилением нерекомбинационной флуоресценции ССА. Об этом свидетельствует, в частности, тот факт, что при недостатке азота спектр низкотемпературной флуоресценции зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* приобретает явное сходство со спектром флуоресценции ССА [4]. Кроме того, авторами [5, 7] было показано, что азотное голодание водорослей вызывает снижение относительного содержания белковых комплексов РЦ ФС 2 CP-47, CP-43 и D1 по сравнению с комплексами ССА и, возможно, вызывает нарушение или ослабление связи между ССА и РЦ ФС 2.

Однако прямых данных, однозначно указывающих на природу разгорания флуоресценции водорослей при недостатке минерального питания, получено не было. Это потребовало проведения дополнительных исследований с привлечением новых методов, некоторые результаты которых излагаются в данной работе.

3. Методы и аппаратура

В настоящей работе использовался метод импульсной лазерной флуориметрии насыщения [16], в основе которого лежит возбуждение наносекундными лазерными импульсами и регистрация интегрального флуоресцентного отклика. Применение этого метода, как будет показано ниже, позволяет выделять вклады рекомбинационной и нерекомбинационной флуоресценции и получать новую информацию о механизмах изменений флуоресценции хлорофилла. Остановимся подробнее на специфике возбуждения флуоресценции хлорофилла *a in vivo* мощными наносекундными лазерными импульсами.

Как уже отмечалось, в режиме «слабого» фотовозбуждения величина отношения Φ_v/Φ_0 составляет 0—0,2 для клеток в нормальном функциональном состоянии и возрастает до 2—3 при переходе РЦ ФС 2 в закрытое состояние [2, 8]. В случае импульсного лазерного возбуждения величина Φ_v/Φ_0 зависит не только от состояния РЦ ФС 2, но и от режима возбуждения, в частности от плотности потока фотонов F [9, 17].

Если к моменту прихода лазерного импульса РЦ ФС 2 находятся в открытом состоянии (P680 Pheo Q_A) и длительность импульса возбуждения не превышает 10—20 нс, то возникновение рекомбинационной флуоресценции Φ_v невозможно независимо от интенсивности возбуждения [9].

Если же РЦ ФС 2 изначально находятся в закрытом состоянии (P680 Pheo Q_A^-) или в них блокирован транспорт электрона между Pheo и Q_A, то рекомбинационная компонента флуоресценции возникает, но ее относительная величина (Φ_v/Φ_0) существенно зависит от плотности потока фотонов F зондирующего излучения [9]. Это объясняется тем, что природа насыщения переменной и постоянной компонент флуоресценции различна, и, как следствие, Φ_v насыщается при гораздо меньших значениях F, чем Φ_0. В результате величина отношения Φ_v/Φ_0 максимальна в режиме «слабого» фотовозбуждения ($F < 10^{22}$ см$^{-2}\cdot$с$^{-1}$), уменьшается с увеличением F и при $F > 10^{24}$ см$^{-2}\cdot$с$^{-1}$ становится незначительной [9, 17].

Основываясь на этом, мы использовали метод лазерной флуориметрии насыщения для выделения и количественной оценки величины вкладов рекомбинационной и нерекомбинационной компонент в разгорание флуоресценции водорослей при недостатке минерального питания.

Для этого мы проводили измерения интенсивности флуоресценции при значениях F, лежащих в диапазоне от 10^{22} до 10^{24} см$^{-2}\cdot$с$^{-1}$. Для определения минимального уровня интенсивности флуоресценции (Φ_{min}), характерного для нормальных клеток и включающего только постоянную компоненту, мы освещали пробу с водорослями в течение 10—15 мин сильным светом ($2\cdot10^5$ лк), вызывающим фотоингибирование фотосинтеза [14]. Как известно [4], фотоингибирование сопровождается тушением переменной компоненты флуоресценции, при этом восстанавливается низкий уровень флуоресценции, характерный для клеток с полностью открытыми РЦ ФС 2. Таким образом, отношение $K=\delta\Phi/\Phi_{min}=(\Phi-\Phi_{min})/\Phi_{min}$, где Φ — исходный уровень интенсивности флуоресценции до фотоингибирования, а Φ_{min} — после фотоингибирования, определяет относительную величину разгорания флуоресценции при недостатке минерального питания. Измерения этой величины в режиме «сильного» фотовозбуждения ($F > 10^{24}$ см$^{-2}\cdot$с$^{-1}$) позволяли определить вклад нерекомбинационной компоненты в изменения флуоресценции, так как при этом рекомбинационная компонента не проявляется. Значения K, измеренные в режиме «слабого» фотовозбуждения, определяли относительную величину общего увеличения флуоресценции, включающего как рекомбинационную, так и нерекомбинационную компоненты. Разность значений K, измеренных во втором и первом случаях, характеризовала относительную долю рекомбинационной компоненты в режиме «слабого» фотовозбуждения.

Таким образом, анализ изменений флуоресценции хлорофилла *a in vivo* при измерениях в различных режимах импульсного лазерного возбуждения позволяет выделить в этих изменениях рекомбинационную и нерекомбинационную компоненты, даже если они имеют оди-

наковое время жизни — несколько наносекунд и не различаются методом кинетической спектроскопии с пико- и наносекундным разрешением.

Измерения флуоресценции при лазерном возбуждении проводились на лазерном спектрофлуориметре (рис. 1) с системой регистрации на основе оптического многоканального анализатора (ОМА). Флуоресценция водорослей возбуждалась второй гармоникой YAG:Nd^{3+}-лазера с активной модуляцией добротности (длина волны излучения 532 нм, длительность импульса 10 нс, частота следования импульсов 7 Гц). Плотность потока фотонов в зондируемом объеме варьировалась в диапазоне $F = 10^{22}$—$2 \cdot 10^{24}$ $см^{-2} \cdot с^{-1}$ с помощью ослабляющих фильтров. Спектр интегрального отклика регистрировался ОМА, сопряженным с микро-ЭВМ, осуществляющей управление экспериментальной установкой и обработку результатов. Для того чтобы исключить влияние фоновой подсветки на ОМА, приемник стробировался импульсами длительности 1 мкс синхронно с лазерными вспышками. Для обеспечения режимов фоновой подсветки и фотоингибирования применялся диапроектор. Освещенность пробы водорослей контролировалась люксометром.

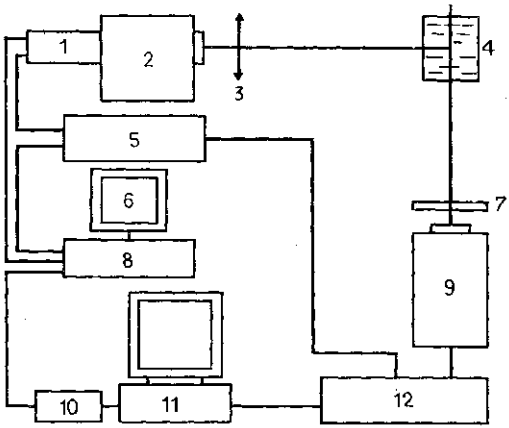

Рис. 1. Блок-схема лазерного спектрофлуориметра: *1* — детектор оптического многоканального анализатора (ОМА), *2* — полихроматор ОМА, *3* — объектив, *4* — кювета с пробой фитопланктона, *5* — генератор высоковольтных импульсов, стробирующих детектор ОМА, *6* — монитор ОМА, *7* — ослабляющие фильтры, *8* — консоль ОМА, *9* — YAG : Nd^{3+}-лазер, *10* — интерфейс, *11* — микро-ЭВМ, *12* — блок питания лазера

В экспериментах использовались чистые культуры морских водорослей: диатомовых *Nitzschia sp.*, зеленых *Platimonas viridis*, перидиниевых *Peridinium vulfii* и *Prorocentrum micaus*, а также пресноводной *Chlorella vulgaris*, выращиваемых на кафедре гидробиологии биологического факультета МГУ. Степень голодания контролировали по величине относительного выхода переменной флуоресценции хлорофилла *a* $\eta = (\Phi_{max} - \Phi)/\Phi_{max}$ (Φ, Φ_{max} — интенсивности флуоресценции до и после добавления диурона в пробу), измеренной в режиме «слабого» фотовозбуждения ($F = 10^{22}$ $см^{-2} \cdot с^{-1}$). Величина η составляла 0,6—0,75 на логарифмической стадии роста водорослей и снижалась до 0,1—0,2 по мере истощения ресурсов минерального питания в среде обитания водорослей.

4. Результаты и обсуждение

На рис. 2 показаны зависимости отношения интенсивности флуоресценции до и после фотоингибирования сильным светом ($2 \cdot 10^5$ лк) в течение 15 мин от плотности потока фотонов зондирующих лазерных импульсов для диатомовых *Nitzschia sp.* на логарифмической стадии роста, на стационарной стадии и при максимальном истощении ресурсов минерального питания. В первом случае (рис. 2, *1*) изменения интенсивности флуоресценции *K* минимальны и составляют около 5%. При этом величина *K* практически не зависит от интенсивности зонди-

рующих лазерных импульсов. Это свидетельствует о том, что изменяется только нерекомбинационная компонента флуоресценции, и подтверждает

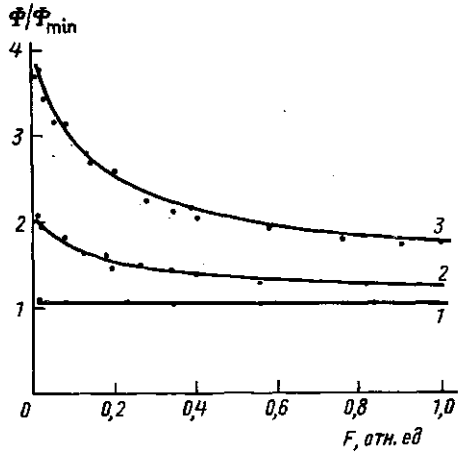

Рис. 2. Зависимость отношения интенсивностей флуоресценции хлорофилла до (Ф) и после ($Ф_{min}$) фотоингибирования от плотности потока фотонов F зондирующего лазерного излучения для диатомовой водоросли *Nitzschia sp.*: *1* — на логарифмической стадии роста, *2* — на стационарной и *3* — при максимальном истощении ресурсов минерального питания в среде обитания. Максимальное значение плотности потока фотонов $F \approx 10^{24}$ $см^{-2} \cdot с^{-1}$

тот факт, что у нормальных клеток исходный уровень флуоресценции включает только постоянную, нерекомбинационную компоненту, которая лишь незначительно уменьшается при фотоингибировании [2, 4].

При недостатке минерального питания изменения интенсивности флуоресценции при фотоингибировании возрастают. Степень вызванного фотоингибированием тушения флуоресценции в этом случае зависит от интенсивности зондирующих лазерных импульсов (рис. 2, *2* и *3*) — она максимальна при «слабом» фотовозбуждении и уменьшается с ростом интенсивности импульсов. На стационарной стадии роста относительная величина изменений интенсивности флуоресценции составляет $K=0{,}3$ при измерениях в режиме «сильного» фотовозбуждения ($F>10^{24}$ $см^{-2} \cdot с^{-1}$) и $K=1$ в режиме «слабого» фотовозбуждения ($F<10^{22}$ $см^{-2} \cdot с^{-1}$). Для *Nitzschia sp.* при максимальном истощении биогенов в среде обитания (рис. 2, *3*) относительная величина изменений интенсивности флуоресценции составляет $K=0{,}7$ и 3 соответственно. Тот факт, что величина K сильно уменьшается с ростом F, свидетельствует о доминирующем вкладе рекомбинационной компоненты в эти изменения. Поскольку изменения флуоресценции проявляются и при «сильном» лазерном возбуждении, то в них присутствует и нерекомбинационная компонента. Количественные оценки показывают, что величина рекомбинационной компоненты в изменениях интенсивности флуоресценции при измерениях в режиме «слабого» фотовозбуждения составляет 73% от общего изменения флуоресценции на стационарной стадии роста и 77% при максимальном истощении минерального питания.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что наблюдаемое при недостатке биогенов разгорание флуоресценции обусловлено как добавлением рекомбинационной, так и увеличением постоянной, нерекомбинационной компоненты. Из приведенных результатов следует, что соотношение величин этих вкладов практически не зависит от стадии голодания клеток *Nitzschia sp.*

Аналогичные результаты по тушению лазероиндуцированной флуоресценции при фотоингибировании были получены и для других культур водорослей: зеленых *Chlorella vulgaris* и *Platimonas viridis*, а также перидиниевых *Peridinium vulfii* и *Prorocentrum micaus*. При этом характер наблюдаемых изменений, в частности зависимостей отноше-

ния интенсивности флуоресценции до и после фотоингибирования сильным светом от интенсивности зондирующих лазерных импульсов для этих культур был таким же, как и для *Nitzschia sp.* В частности, рекомбинационная компонента давала доминирующий вклад в увеличение флуоресценции голодных клеток, а относительная величина нерекомбинационной компоненты в суммарном изменении флуоресценции ($\delta\Phi_0/\delta\Phi_v+\delta\Phi_0)$) при «слабом» фотовозбуждении составляла 25—40%.

Известно, что недостаток различных элементов минерального питания (N, P, Si и др.) вызывает похожие изменения ряда люминесцентных параметров фотосинтезирующих организмов [2, 4]. С целью получения дополнительных данных о специфике этих изменений нами были проведены эксперименты по исследованию влияния общего истощения ресурсов минерального питания и недостатка азота в среде обитания водорослей. Оказалось, что в обоих случаях соотношение рекомбинационного и нерекомбинационного вкладов флуоресценции было одинаковым, что свидетельствует, вероятно, об идентичности происходящих при этом изменений фотосинтетического аппарата.

Появление рекомбинационной компоненты во флуоресценции водорослей при недостатке минерального питания подтверждает тот факт, что голодание приводит к появлению неактивных РЦ ФС 2 [2, 4], в которых, по предположению авторов [4], нарушен транспорт электронов между Pheo и первичным хиноновым акцептором Q_A. При попадании возбуждений на такие РЦ ФС 2 происходит первичное разделение зарядов с последующей их рекомбинацией и испусканием переменной флуоресценции. Поскольку при максимальном истощении минерального питания в среде обитания водорослей начальный уровень интенсивности флуоресценции увеличивается почти до максимального (Φ_{max}), соответствующего полностью закрытым РЦ ФС 2, то при этом большинство РЦ ФС 2 переходит в неактивное состояние с нарушенным транспортом электрона между Pheo и Q_A.

В то же время, как показали наши эксперименты, недостаток минерального питания приводит также к появлению небольшого количества неактивных РЦ ФС 2 с нарушенным переносом электрона от Q_A к вторичному хиноновому акцептору Q_B. Это наглядно демонстрируют результаты эксперимента, приведенные на рис. 3, где изображена зависимость интенсивности флуоресценции зеленой водоросли *Platimonas viridis*, находящейся на стационарной стадии роста, от времени измерения. Флуоресценция возбуждалась слабыми импульсами ($F=10^{22}$ см$^{-2}\cdot$с$^{-1}$) для того, чтобы максимально проявлялись изменения переменной флуоресценции. Первые три значения интенсивности флуо-

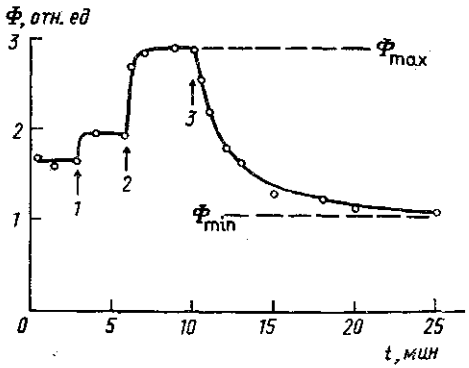

Рис. 3. Зависимость интенсивности флуоресценции хлорофилла зеленой водоросли *Platimonas viridis*, находящейся на стационарной стадии роста, от времени измерения: *1* — включение фоновой подсветки 100 лк, *2* — добавление диурона и включение подсветки 10^3 лк, *3* — включение сильного света $2\cdot10^5$ лк

ресценции (Φ_1=1,65) были измерены в темноте при возбуждении одиночным импульсом для того, чтобы полностью исключить влияние последовательности измерительных импульсов на фотосинтетический аппарат и измерить темновой уровень интенсивности флуоресценции. Две последующие точки на рис. 3 получены после включения слабой фоновой подсветки (100 лк). Интенсивность флуоресценции при этом увеличилась до значения Φ_2=1,95. После добавления в пробу диурона (в концентрации 10^{-5} М) и включения фоновой подсветки, создающей освещенность 1000 лк, флуоресценция достигла своего максимального уровня Φ_{max}=2,9, соответствующего полностью закрытым РЦ ФС 2. Фотоингибирование сильным светом ($2 \cdot 10^5$ лк) в течение 15 мин привело к снижению интенсивности флуоресценции до минимального уровня Φ_{min}=1.

Увеличение Ф от 1,65 до 1,95 при включении подсветки 100 лк свидетельствует о переходе части изначально открытых реакционных центров в закрытое состояние с восстановленным акцептором Q_A. То, что даже слабый свет закрывает такие РЦ, показывает, что в них блокирован отток электронов от Q_A к вторичному хиноновому акцептору Q_B. Это обусловлено, вероятно, повреждением гербицидосвязывающего белка D1 массой 32 кДа, с которым связан Q_B.

Оценка относительной концентрации таких неактивных РЦ может быть сделана по величине отношения $(\Phi_2-\Phi_1)/(\Phi_{max}-\Phi_{min})$, так как знаменатель соответствует изменению интенсивности флуоресценции при переходе из открытого в закрытое состояние всех РЦ, а числитель — только неактивных РЦ с нарушенной связью между Q_A и Q_B. Оценка для случая, приведенного на рис. 3, показала, что концентрация таких неактивных РЦ ФС 2 составляла 15% от общего количества РЦ ФС 2. Аналогичные оценки, полученные для других видов водорослей на различных стадиях роста, показали, что относительная концентрация таких РЦ не превышала 10—15% и была максимальной на промежуточных стадиях голодания, когда увеличение флуоресценции водорослей составляло примерно половину от максимального.

Таким образом, в данной работе показано, что увеличение интенсивности флуоресценции хлорофилла «а» фитопланктона при недостатке минерального питания включает две компоненты. Первая компонента, относительная величина которой в общем изменении интенсивности флуоресценции составляет 60—75%, имеет рекомбинационную природу и обусловлена, вероятно, нарушением транспорта электрона в РЦ ФС 2 между Pheo и Q_A. Вторая, нерекомбинационная компонента, относительная величина которой — 25—40%, связана с ослаблением связи между светособирающей антенной и РЦ ФС 2 или нарушением транспорта электронов между P680 и Pheo. Показано, что недостаток минерального питания приводит также к появлению небольшого (не более 15%) количества неактивных РЦ ФС 2 с нарушенным переносом электрона от Q_A к вторичному хиноновому акцептору Q_B.

В заключение авторы выражают благодарность сотрудникам биологического факультета МГУ П. С. Венедиктову за полезные обсуждения результатов и Л. В. Ильяш за помощь в организации экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Krause G. H., Weis E.//Photosyn. Res. 1984. 5. N 2. P. 139. [2] Рубин А. Б., Кононенко А. А., Пащенко В. З. и др.//Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. 1987, 22. [3] Kiefer D. A.//Marine Biol. 1973. 23. P. 39. [4] Чемерис Ю. К., Попова А. В., Арутюнян А. А., Венедиктов П. С.//Физио-

логия раст. 1989. **36**. № 1. С. 57. [5] Kolber Z., Zehr J., Falkowski P. G.// Plant Physiol. 1988. **88**. N 3. P. 923. [6] Herzig R., Falkowski P. G.//J. Phycol. 1989. **25**. P. 462. [7] Falkowski P. G., Sukenik A., Herzig R.//J. Phycol. 1989. **25**. P. 471. [8] Holtzwarth A. R.//Photochem. Photobiol. 1986. **43**. P. 707. [9] Иванов И. Г., Фадеев В. В.//Изв. АН СССР, сер. биол. 1989. **53**. № 6. С. 882. [10] Бункин А. Ф., Суровегин А. Л.//Океанология. 1986. **26**. № 3. С. 532. [11] Карабашев Г. С. Флюоресценция в океане. Л., 1987. [12] Демидов А. А., Лапшенкова Т. В., Фадеев В. В. и др.//Метеорология и гидрология. 1988. № 6. С. 62. [13] Климов В. В., Алахвердиев С. И., Пашенко В. З.//Докл. АН СССР. 1978. **242**, № 5. С. 1204 [14] Powles S. B.//Ann. Rev. Plant Physiol. 1984. **35**. P. 15. [15] Simpson D. J., Robinson S.//Plant Physiol. 1984. **74**. N 3. P. 735. [16] Джаспм С. Я., Серов Н. Я., Фадеев В. В. и др.//Квант. электроника. 1991. **18**, № 4. С. 425. [17] Иванов И. Г. Дис. ... канд. физ.-мат. наук. М. (МГУ, физ. фак.), 1987.

Поступила в редакцию
30.10.91

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1992. Т. 33, № 4

УДК 581.132:58.035

ВЕРОЯТНОСТНОЕ ОПИСАНИЕ ЗАМЕДЛЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ МОДЕЛИ КОМПЛЕКСА РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2

А. К. Кукушкин, В. А. Рябов, Е. А. Солдатова

(кафедра биофизики)

Применен вероятностный метод для описания замедленной флуоресценции высших растений. За основу простейшей модели берется комплекс реакционных центров фотосистемы 2, в котором под действием света происходит разделение зарядов. Рассматривается модель, состоящая из пигмента, донора и акцептора электронов с прерванной цепью электронного транспорта с учетом безызлучательного перехода, а также без него. Результаты показывают, что многоэкспоненциальная кинетика затухания и немонотонная кинетика интенсивности замедленной флуоресценции могут возникать в ходе обратных реакций, происходящих на начальных этапах переноса электронов.

Как известно, фотосинтез осуществляют высшие растения, водоросли и некоторые бактерии. Основной смысл этого процесса состоит в трансформации световой энергии в химическую энергию органических молекул. На начальной стадии фотосинтеза энергия света трансформируется и аккумулируется в таких продуктах, как АТФ и НАДФН, а в последующих темновых реакциях АТФ и НАДФН обеспечивают восстановление CO_2 до углеводов и другие биохимические превращения. Изучение механизмов такого высокоэффективного использования энергии света в фотосинтезе играет первостепенную роль для управления этим процессом. Получение результатов возможно на этом пути только при детальном выяснении взаимосвязи первичных процессов фотосинтеза с физиолого-биохимическим состоянием растения как основным фактором, регулирующим общий характер и эффективность фотосинтеза.

В 1951 г. Стрелер и Арнольд обнаружили, что изолированные хлоропласты испускают слабое свечение в течение многих секунд после облучения их видимым светом [1]. Сходство спектров свечения со спектрами флуоресценции показало, что у выделяющих кислород организмов это свечение испускается молекулами хлорофилла *a* при переходе их из первого синглетного возбужденного состояния в основное, т. е. представляет собой замедленную флуоресценцию (ЗФ) хлорофилла. В соответствии с представлением о ЗФ как следствии обращения