

Корреляция концентрации реакционных центров первой фотосистемы с величиной отношения дальней красной к красной флуоресценции хлорофилла фототрофов

Елена Николаевна Заворуева¹, Валерий Владимирович Заворуев^{1,2}

¹Институт градостроительства, управления и региональной экономики
Сибирского федерального университета, кафедра «Теплогазоснабжение и вентиляция»
660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 82
valzav@icm.krasn.ru

²Институт вычислительного моделирования СО РАН
660036, г. Красноярск, Академгородок
valzav@icm.krasn.ru

Поступила в редакцию 8.02.2008 г.

Проанализированы литературные данные отношения интенсивностей дальней красной к красной флуоресценции, измеренной при температуре жидкого азота в культуре синезеленых водорослей и листьев гороха, а также собственные экспериментальные результаты определения флуоресцентных сигналов, полученных при комнатной температуре на листьях пшеницы, в зависимости от количества реакционных центров первой фотосистемы. Показано, что с увеличением концентрации реакционных центров линейно возрастает отношение максимумов красной флуоресценции хлорофилла. Делается вывод, что полученная зависимость характерна для всех фотосинтезирующих организмов, выделяющих кислород.

Ключевые слова: флуоресценция, хлорофилл, первая фотосистема, отношение F_{734}/F_{682} .

Флуоресценция хлорофилла листьев характеризуется двухмодульной структурой. Один пик находится в интервале 682–686 нм (F_{682}), другой — 730–742 нм (F_{734}) [1–3]. Вначале измеряют интенсивность флуоресценции каждого максимума, а затем рассчитывают их отношение. Величина отношений интенсивностей F_{734}/F_{682} зависит от температуры, при которой проводятся измерения, и длины волны возбуждающего света [2, 4]. По мнению одних исследователей, этот параметр коррелирует с концентрацией хлорофилла [2–5], а по мнению других — является отличительным видовым признаком [1]. В статье [4] сообщается об изменении отношения F_{734}/F_{682} при различных физиологических состояниях растений. Из анализа работ [2–5] следует, что нет однозначной трактовки связи величины F_{734}/F_{682} с другими параметрами, характеризующими развитие растения.

В последнее время получен ряд результатов, позволяющий продвинуться в трактовке информационного значения F_{734}/F_{682} . Во-первых, показано, что вклад первой фотосистемы (ФС I) в общий флуоресцентный сигнал составляет более 40% при комнатной температуре [6, 7]. Во-вторых, получены данные, свидетельствующие, что увеличение отношения дальней красной к красной флуоресценции связано с возрастанием концентрации реакционных центров ФС I (P_{700}) при температуре жидкого азота [8]. В-третьих, экспериментально показано, что флуоресцентный сигнал на 685 нм характеризует фотосистему II (ФС II), а на 730 нм — ФС I [9].

В связи с тем что при комнатной температуре вклад ФС I в общий флуоресцентный сигнал до недавних пор считался незначительным, никаких исследований связи флуоресцентных параметров с количеством компонентов первой фотосистемы не проводилось.

В данной статье рассмотрены связи величины отношения дальней красной к красной флуоресценции хлорофилла фототрофов с концентрацией реакционных центров первой фотосистемы.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали сорт 232 пшеницы (*Triticum aestivum* L). Растения выращивали в герметичных вегетационных шкафах в контролируемых условиях среды методом гидропоники на керамзите при непрерывном освещении (150 Вт/м² ФАР, температура воздуха 24 °С). В качестве источника излучения использовали лампы ДКсТВ-6000.

Для определения концентрации реакционных центров ФС I использовали хемоиндуцированный метод [10].

Измерение интенсивности флуоресценции хлорофилла листьев растений на длинах волн 682 и 734 нм проводили на двухволновом флуориметре [11].

Кроме того, для анализа связи отношения F_{734}/F_{682} и P_{700} использовали литературные данные.

Результаты и обсуждение

В 1987 г. была опубликована работа [12], в которой исследовались спектры флуоресценции листьев и хлоропластов гороха, а также количество реакционных центров обеих фотосистем при дефиците железа. Было установлено, что недостаток этого компонента питания приводит к проявлению хлороза только через 3–4 нед роста растений. При этом содержание пигментов в листьях 7-го яруса составляло не более 15–20% от контроля. Флуоресцентные измерения в данной статье использовались только для того, чтобы продемонстрировать наличие и активность реакционных центров первой и второй фотосистем. При этом авторы исходили из того, что каждый хлорофилл-белковый комплекс имеет характерные для него полосы излучения низкотемпературной флуоресценции.

Параллельно измеряли число реакционных центров фотосистем по величине светоиндуцированных сигналов электронного парамагнитного резонанса.

Однако корреляционного анализа между полученными данными параметров низкотемпературной флуоресценции и количеством реакционных центров не было проведено. По результатам работы [12] была построена концентрационная зависимость (рис. 1).

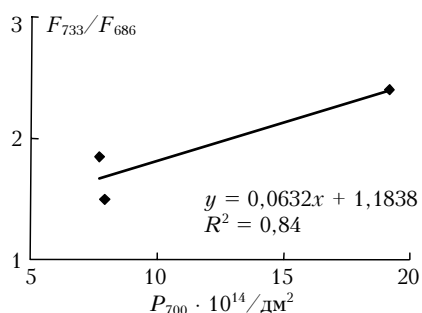


Рис. 1. Зависимость F_{733}/F_{686} от концентрации реакционных центров ФС I в листьях гороха [12]

Видно, что зависимость между параметром F_{733}/F_{686} и количеством реакционных центров P_{700} аппроксимируется прямой.

Позднее была опубликована еще одна работа [13], где исследовалось влияние корневой гипоксии и дефицита железа на спектральные свойства и число реакционных центров фотосистем гороха. Было показано, что такое лимитирование вызывает одновременное изменение низкотемпературных флуоресцентных характеристик, числа реакционных центров и концентрации хлорофилла. Так же как и в работе [12], корреляционного анализа между этими параметрами проведено не было. Исследования связи отношения F_{733}/F_{686} и P_{700} позволили заключить, что корреляция имеет подобный характер, как в [12] (рис. 2).

В связи с изменением представления о вкладе ФС I во флуоресцентный сигнал и утверждением, что дальняя красная флуоресценция связана с ФС I, был выполнен цикл работ на синезеленых водорослях. Например, в одной из работ подробно рассматривается изменение отношения дальней красной к красной

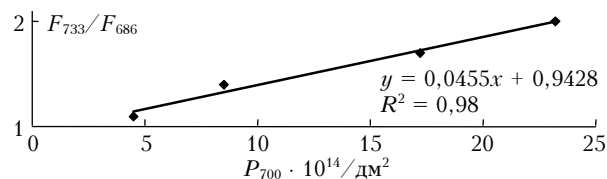


Рис. 2. Зависимость F_{733}/F_{686} от концентрации реакционных центров ФС I в листьях гороха [13]

флуоресценции и количества реакционных центров ФС I от времени культивирования синезеленых водорослей *Synechococcus sp.* на среде, дефицитной по железу [14]. Так же как и в предыдущих работах, не была построена концентрационная зависимость флуоресцентных параметров от содержания P_{700} . Изучение этой зависимости показало, что она имеет линейный характер (рис. 3).

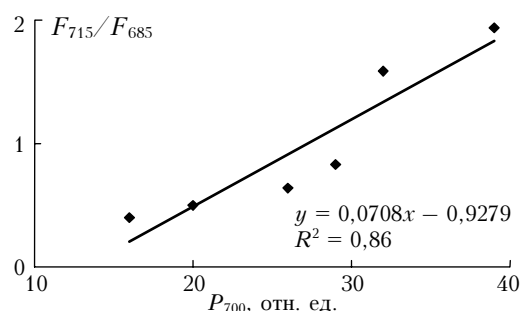


Рис. 3. Зависимость F_{715}/F_{685} от концентрации реакционных центров ФС I в клетках синезеленых водорослей [14]

Из анализа литературных данных следует, что между отношением интенсивностей красной флуоресценции, измеренных при температуре жидкого азота, существует прямо пропорциональная связь с количеством реакционных центров ФС I. Причем эта зависимость одинакова как для водорослей, так и растений.

Все вышесказанное связано с измерением низкотемпературной флуоресценции. В работе [11] показано, что спектры флуоресценции хлорофилла фототрофов, подобные спектрам низкотемпературной флуоресценции, можно получать и при комнатной температуре. Для этого необходимо возбуждать флуоресценцию широкополосным светом (380–540 нм) интенсивностью 180 Вт/м^2 ФАР. Концентрационные зависимости флуоресцентных параметров от содержания реакционных центров ФС I при данных условиях измерения никем не были измерены. Ниже представлены такие исследования, выполненные на листьях пшеницы.

Исследования зависимости параметра F_{734}/F_{682} от концентрации реакционных центров ФС I проводились на 12–14-суточных проростках пшеницы. Для измерения использовали все листья, кроме 1-го яруса. При этом вариации сырой массы единицы листовой поверхности (высечки) не превышали 30%. Например, в одном из экспериментов диапазон изменения сырой массы высечки составлял от $(10,1 \pm 0,7)$ до $(13,0 \pm 0,7)$ мг для листьев 2–5-го ярусов. Из рис. 4 видно, что экспериментальные точки имеют относительно большой разброс. Это можно объяснить

разной массой пластинок. Такая 30%-я вариация в сырой массе высечек никак не может повлиять на линейную связь между параметром F_{734}/F_{682} и концентрацией реакционных центров ФС I в листьях пшеницы различных ярусов.

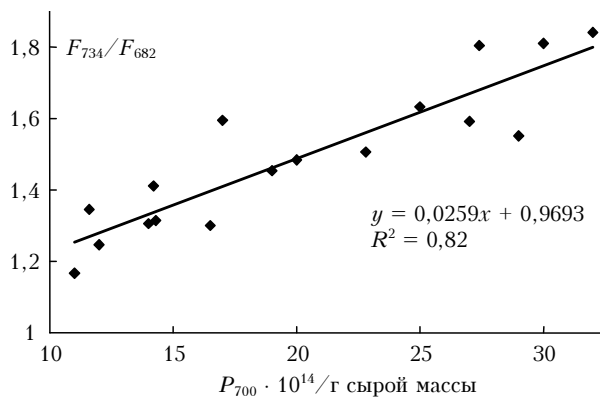


Рис. 4. Зависимость F_{734}/F_{682} от концентрации реакционных центров P_{700} в листьях пшеницы различных ярусов

С увеличением концентрации реакционных центров P_{700} линейно возрастает отношение максимумов красной флуоресценции хлорофилла и при комнатной температуре. Полученная зависимость идентична таковой для гороха (см. рис. 1, 3). Отличие состоит в том, что спектры для гороха и пшеницы получены при низкой и комнатной температуре соответственно. Так как снимать низкотемпературные спектры флуоресценции листьев более трудоемко, то можно считать, что предложенный в [11] метод измерения флуоресценции хлорофилла при комнатной температуре более удобен и занимает меньше времени для получения оперативной информации о количестве реакционных центров в листьях. Если же сравнивать экспрессность метода [11] с хемилюминесцентным методом определения P_{700} [10], то первый более чем в 30 раз оперативней, чем второй, и поэтому с его помощью можно обрабатывать большее количество проб.

Исходя из данных [12–14], в которых показана линейная связь количества реакционных центров первой фотосистемы с величиной отношения дальней красной к красной флуоресценции, полученных при низкой температуре для различных видов фотосинтезирующих организмов, можно предполагать, что измерения параметров флуоресценции, выполненные при комнатной температуре, также будут распространяться на фотосинтезирующие объекты, которые в процессе фотосинтеза выделяют кислород.

E.N. Zavorueva, V.V. Zavoruev. Correlation between the reactionary centers of the first photosystem with the ratio of far red to red fluorescence of phototrophs' chlorophyll.

Literary data of relation of intensities of far red to the red fluorescence measured at temperature of liquid nitrogen in culture of blue-green algae and leaves of peas are analyzed, as well as own experimental results of determination of the fluorescent signals received at room temperature on leaves of wheat depending on quantity of the reactionary centers of the first photosystem. It is shown, that the relation of maxima of red fluorescence of chlorophyll linearly grows with an increase in concentration of the reactionary centers. It is concluded, that the received dependence is characteristic for all photosynthesizing organisms disengaging oxygen.

1. Четвериков А.Г. Принципы исследования реальных спектров флуоресценции фотосинтезирующих объектов // Биофизика. 1989. Т. 24. Вып. 1. С. 82–90.
2. Кочубей С.М., Шадчина Т.М., Одинокий Н.С. Проявление недостаточности азотного питания растений по спектральным характеристикам флуоресценции листьев // Физиология биохимия культурных растений. 1986. Т. 18. Вып. 1. С. 35–39.
3. Szabo K., Lichtenthaler H.K., Kcsanyi Z., Richter P. A CCD-OMA device for measurement of complete chlorophyll fluorescence emission spectra of leaves during the fluorescence induction kinetics // Radiat. and Environ. Biophys. 1992. V. 31. N 1. P. 153–160.
4. Аслаиуди К.Б., Шалапенко А.А., Карнауков В.Н. Методика определения функционального состояния растений по спектрам флуоресценции хлорофилла (техника биомониторинга). Пушкино: НИЦБИ, 1988. 44 с.
5. Kok B. Photosynthetic electron transport // Kok B. and Jagendorf A.T. (eds). Photosynthetic Mechanisms of Green Plants / Publ 1145. NAS-NRC, Washington, DC, 1963. P. 537–544.
6. Pfundel E. Estimating the contribution of photosystem I to total leaf chlorophyll fluorescence // Photosynth. Res. 1998. V. 56. N 2. P. 185–195.
7. Franck F., Juneau P., Popovic R. Resolution of the photosystem I and photosystem II contributions to chlorophyll fluorescence of intact leaves at room temperature // Biochim. et Biophys. Acta. 2002. V. 1556. N 2–3. P. 239–246.
8. Misra H.S., Mahajan S.K. Excitation energy transfer from phycobilisomes to photosystems: a phenomenon associated with the temporal separation of photosynthesis and nitrogen fixation in a cyanobacterium *Plectonema boryanum* // Biochim. et Biophys. Acta. 2000. V. 1459. N 1. P. 139–147.
9. Ладыгин В.Г. Флуоресценция, формы хлорофилла и число реакционных центров фотосистем I и II у CHLOROTICA мутантов *Pisum sativum* L. // Биофизика. 2002. Т. 47. № 6. С. 1032–1043.
10. Markwell J.P., Thornber J.P., Skrdla M.P. Effect of detergents on the reliability of a chemical assay for P_{700} // Biochim. et Biophys. Acta. 1980. V. 591. N 2. P. 391–399.
11. Zavoruev V.V., Zavorueva E.N., Shelegov A.V. Fluorescence of cucumber leaves induced within the photoexcitation wavelength range 380–540 nm and its dependence on vegetation time and illumination regime // Biofizika. 2000. V. 45. N 4. P. 704–711.
12. Закржевский Д.А., Ладыгина О.Н., Ладыгин В.Г. Влияние дефицита железа на спектральные свойства и число реакционных центров фотосистем хлоропластов гороха // Физиология растений. 1987. Т. 34. № 3. С. 926–932.
13. Ладыгина О.Н., Четвериков А.Г., Закржевский Д.А. Влияние корневой гипоксии и дефицита железа на спектральные свойства и число реакционных центров фотосистем листьев гороха // Физиология растений. 1990. Т. 37. № 1. С. 70–77.
14. Sandström S., Ivanov A.G., Park Y.-I., Öquist G., Gustafsson P. Iron stress responses in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC7942 // Physiol. Plantarum. 2002. V. 116. N 2. P. 255–263.