

*ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В.ЛОМОНОСОВА»*

ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

КАФЕДРА Общей физики

**«Люминесцентные характеристики растений при  
пониженном содержании хлорофилла»**

Дипломная работа

Выполнил студент  
405 группы  
Резниченко Игорь Олегович

Научный руководитель:  
Проф. Караваев Владимир Александрович

Москва

2016

# Содержание

|  |    |
|--|----|
| 1. Введение .....  | 3  |
| 2. Обзор литературы.....   | 3  |
| 2.1. Современные представления о фотосинтезе высших растений.....  | 3  |
| 2.1.1. Поглощение света в хлоропластах растений. ....  | 4  |
| 2.1.2. Строение электрон-транспортной цепи в тилакоидах хлоропластов.....  | 7  |
| 2.2. Регуляция темновых и световых стадий фотосинтеза .....  | 9  |
| 2.2.1. Фотосинтетический контроль. ....  | 10 |
| 2.2.2. Перераспределение энергии возбуждения между фотосистемами. ....   | 11 |
| 2.3. Флуоресцентные методы в изучении фотосинтеза .....  | 13 |
| 2.3.1. Индукционные изменения флуоресценции фотосинтезирующих объектов. ....   | 13 |
| 2.3.2. Спектры флуоресценции листьев растений. ....  | 14 |
| 2.3.3. Импульсная флуориметрия.....  | 15 |
| 3. Методика проведения экспериментов .....   | 17 |
| 3.1. Регистрация индукции флуоресценции.....   | 17 |
| 3.2. Регистрация спектров флуоресценции. ....  | 18 |
| 3.3. Измерения содержания хлорофилла. ....   | 18 |
| 4. Результаты и их обсуждение.....   | 19 |
| 4.1 Люминесцентные характеристики листьев дуба в условиях осенней деградации хлорофилла. ....  | 19 |
| 4.2 Спектры флуоресценции листьев бобов при пониженной освещённости. ....  | 22 |
| 4.3 Люминесцентные характеристики листьев бобов при пониженном содержании хлорофилла при разной интенсивности действующего (актиничного) света. .... | 24 |
| 5. Выводы .....  | 28 |
| 6. Литература.....   | 29 |

# 1. Введение

Фотосинтез является важнейшим биоэнергетическим процессом, связанным с использованием и преобразованием солнечной энергии. В ходе фотосинтеза растения усваивают энергию солнечного света, синтезируют органические соединения, используемые в качестве продуктов питания животными, и наполняют атмосферу кислородом, обеспечивая тем самым необходимые условия для сохранения и развития жизни на Земле.

Фотосинтетические системы – это высокоорганизованные саморегулирующиеся системы. Важнейшей особенностью работы фотосинтетического аппарата являются высокая эффективность преобразования энергии солнечного света, способность адаптироваться к изменяющимся условиям внешней среды и защищать себя от различных неблагоприятных воздействий. Эффективность фотосинтеза проявляется в различных флуоресцентных характеристиках фотосинтезирующих объектов.

Цель данной работы заключалась в изучении флуоресцентных характеристик растений в условиях пониженного содержания хлорофилла. Были измерены и проанализированы спектры флуоресценции растений, выращенных при разной освещенности и в условиях естественной деградации хлорофилла в осенний период. Также для этих образцов были исследованы индукционные изменения флуоресценции хлорофилла, полученные методом импульсной флуориметрии.

## 2. Обзор литературы

### 2.1. Современные представления о фотосинтезе высших растений.

Фотосинтез представляет собой ряд фотофизических и биохимических процессов, в результате которых растения за счет энергии солнечного света синтезируют углеводы (сахара). При освещении растения поглощают из воздуха углекислый газ и *выделяют кислород*. Многочисленные стадии фотосинтеза принято разделять на две большие группы процессов – световые и темновые стадии фотосинтеза.

У высших растений процессы фотосинтеза протекают в хлоропластах – энергопреобразующих органеллах растительной клетки. Схематическое изображение хлоропласта показано на рис. 1. Под двойной оболочкой хлоропласта находятся протяженные мембранные структуры, называемые тилакоидами [3]. В мембраны тилакоидов включены макромолекулярные белковые комплексы, в которых происходят световые реакции фотосинтеза. В хлоропластах высших растений тилакоиды группируются в граны, которые представляют собой стопки сплюснутых и тесно прижатых друг к другу тилакоидов, имеющих форму дисков [1]. Продолжением отдельных тилакоидов гран являются выступающие из них межгранные тилакоиды. *Благодаря значительному мембранному пространству достигается увеличение числа функциональных единиц (фотосистем 1 и 2), способных осуществлять световые реакции фотосинтеза.* Пространство между оболочкой хлоропласта и тилакоидами называется стромой. В этой гидрофильной среде содержатся водорастворимые органические соединения, молекулы ДНК, ферменты углеродного цикла фотосинтеза, а также неорганические ионы ( $H^+$ , фосфаты и др.) [3].

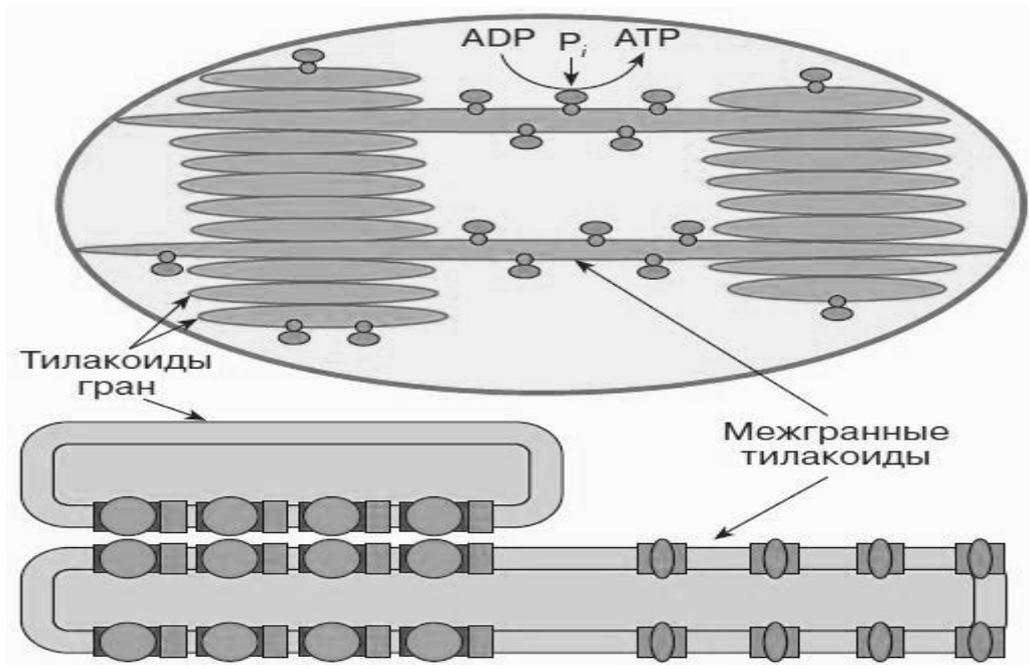


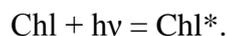
Рис. 1. Схематическое изображение хлоропласта и тилакоидных мембран [3].

### 2.1.1. Поглощение света в хлоропластах растений.

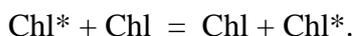
Белковые комплексы, включенные в мембраны тилакоидов и отвечающие за световые процессы фотосинтеза, объединены в две фотосистемы: ФС1 и ФС2. Каждая из фотосистем состоит из светособирающей антенны, фотохимического реакционного центра и связанных с ним молекул переносчиков электрона. Светособирающая антенна представляет собой макромолекулярный комплекс, предназначенный для эффективного улавливания света. В хлоропластах антенный комплекс содержит большое число (до нескольких сотен) молекул хлорофилла и некоторое количество вспомогательных пигментов (каротиноидов), прочно связанных с белком [1]. На ярком солнечном свете отдельная молекула хлорофилла поглощает кванты света в среднем не чаще, чем раз в секунду [6]. На один фотореакционный центр приходится большое количество молекул хлорофилла (200 – 400), что обеспечивает достаточно частое срабатывание реакционного центра даже при относительно слабой интенсивности света [1]. Ансамбль пигментов, поглощающих свет, по сути дела выполняет роль антенны, которая за счет своих достаточно больших размеров эффективно улавливает солнечный свет и направляет его энергию к реакционному центру. *Тенелюбивые растения имеют, как правило, больший размер светособирающей антенны по сравнению с растениями, произрастающими в условиях высокой освещенности.*

У растений основными светособирающими пигментами служат молекулы хлорофилла *a* и хлорофилла *b*, поглощающие свет в синей и красной области спектра. Наряду с хлорофиллом в светособирающую антенну входят вспомогательные пигменты, поглощающие свет в тех областях спектра, в которых сравнительно слабо поглощают свет молекулы хлорофилла. У растений вспомогательными пигментами являются каротиноиды.

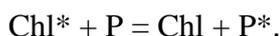
Поглощение кванта света молекулой хлорофилла (Chl) или вспомогательного пигмента приводит к ее возбуждению (переход электрона на более высокий энергетический уровень):



Энергия возбужденной молекулы хлорофилла передается соседним пигментам, которые, в свою очередь, могут передать ее другим молекулам светособирающей антенны:



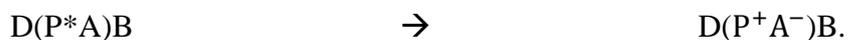
Энергия возбуждения может, таким образом, мигрировать по пигментной матрице до тех пор, пока возбуждение в конечном итоге не попадет на фотореакционный центр P:



Характерные времена жизни возбужденных состояний молекул хлорофилла и других пигментов очень малы:  $\tau \approx 10^{-10} - 10^{-9}$  с [3]. Существует определенная вероятность того, что на пути к реакционному центру P энергия таких короткоживущих возбужденных состояний пигментов может бесполезно потеряться – диссипировать в тепло или выделиться в виде кванта света (явление флуоресценции). В действительности, однако, эффективность миграции энергии к фотосинтетическому реакционному центру очень велика. В том случае, когда реакционный центр находится в активном состоянии, вероятность потери энергии составляет, как правило, не более 10 – 15 % [1]. Такая высокая эффективность использования энергии солнечного света обусловлена тем, что светособирающая антенна представляет собой высокоупорядоченную структуру, обеспечивающую очень хорошее взаимодействие пигментов друг с другом. Благодаря этому достигается высокая скорость переноса энергии возбуждения от молекул, поглощающих свет, к фотореакционному центру. Среднее время “перескока” энергии возбуждения от одного пигмента к другому, как правило, составляет  $\tau \approx 10^{-12} - 10^{-11}$  с. Общее время миграции возбуждения к реакционному центру обычно не превышает  $10^{-10} - 10^{-9}$  с [3].

У растений, водорослей и фотосинтезирующих бактерий реакционные центры являются *первичными донорами электрона при фотосинтезе*. Фотохимический реакционный центр P представляет собой особую пару (димер) молекул хлорофилла, который выполняет роль ловушки энергии возбуждения, блуждающего по пигментной матрице светособирающей антенны [1]. К реакционному центру направляется энергия света, поглощаемого всеми пигментами светособирающей антенны. Возбуждение реакционного центра инициирует цепь дальнейших превращений энергии света при фотосинтезе.

Наряду с димером хлорофилла P в фотосинтетический комплекс входят молекулы первичного и вторичного акцепторов электрона. Обозначим их символами A и B, а также первичный донор электрона – молекула D. Возбужденный реакционный центр P\* обладает *низким сродством к электрону* и поэтому он с легкостью отдает его находящемуся рядом с ним первичному акцептору электрона A:



В результате очень быстрого ( $\tau \approx 10^{-12}$  с) переноса электрона от P\* к A реализуется второй этап преобразования солнечной энергии при фотосинтезе – *разделение зарядов* в

реакционном центре [3]. При этом образуются сильный восстановитель  $A^-$  (донор электрона) и сильный окислитель  $P^+$  (акцептор электрона). Молекулы  $P^+$  и  $A^-$  расположены в мембране асимметрично: в хлоропластах реакционный центр  $P^+$  находится ближе к поверхности мембраны, обращенной внутрь тилакоида, а акцептор  $A^-$  расположен ближе к внешней стороне [1].

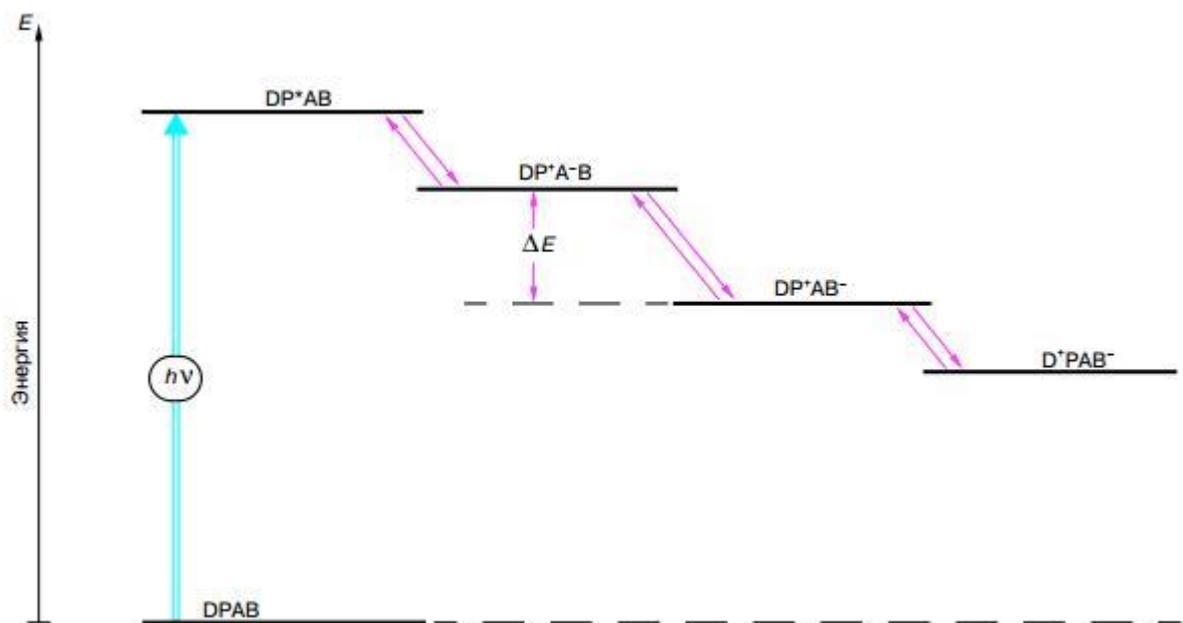


Рис. 2. Схема энергетических уровней реакционного центра [3].

Преобразование энергии в реакционных центрах обладает высокой эффективностью. Электрон, перенесенный на акцептор А, не возвращается обратно к положительно заряженному окисленному центру  $P^+$ . Стабилизация разделенных зарядов обеспечивается главным образом за счет вторичных процессов электронного транспорта, следующих за переносом электрона от  $P^*$  к А. От восстановленного первичного акцептора  $A^-$  электрон очень быстро (характерное время этого процесса обычно не превосходит  $10^{-10} - 10^{-9}$  с) уходит на вторичный акцептор электрона В [3]:



При этом происходит не только удаление электрона от положительно заряженного реакционного центра  $P^+$ , но и заметно снижается энергия всей системы. Это означает, что для переноса электрона в обратном направлении (переход  $B^- \rightarrow A$ ) ему потребуется преодолеть достаточно высокий энергетический барьер  $\Delta E \approx 0,3 - 0,4$  эВ, где  $\Delta E$  – разность энергетических уровней для двух состояний системы, при которых электрон находится на переносчике А или В [6]. По этой причине для возвращения электрона назад, от восстановленной молекулы  $B^-$  к окисленной молекуле А, ему потребовалось бы гораздо больше времени, чем для прямого перехода  $A^- \rightarrow B$ . Поэтому после переноса электрона на вторичный акцептор В существенно уменьшается вероятность его возвращения назад и рекомбинации с положительно заряженной “дыркой”  $P^+$ .

Вторым фактором, способствующим стабилизации разделенных зарядов, служит быстрая нейтрализация окисленного фотореакционного центра  $P^+$  за счет электрона,

поступающего к  $P^+$  от донора электрона  $D$  [3]:



Получив электрон от молекулы донора  $D$  и вернувшись в свое исходное восстановленное состояние  $P$ , реакционный центр уже не будет в состоянии принять электрон от восстановленных акцепторов, однако теперь он готов к повторному срабатыванию – отдать электрон находящемуся рядом с ним окисленному первичному акцептору  $A$ .

### 2.1.2. Строение электрон-транспортной цепи в тилакоидах хлоропластов.

В хлоропластах высших растений имеются две фотосистемы – фотосистема 1 (ФС1) и фотосистема 2 (ФС2), различающиеся по составу белков, пигментов и оптическим свойствам. Светособирающая антенна ФС1 поглощает свет с длиной волны  $\lambda = 700 - 730$  нм, а ФС2 – свет с  $\lambda < 680 - 700$  нм. Индуцированное светом окисление реакционных центров ФС1 и ФС2 сопровождается их обесцвечиванием, которое характеризуется изменениями их спектров поглощения при  $\lambda \approx 700$  и  $680$  нм [5]. В соответствии с их оптическими характеристиками реакционные центры ФС1 и ФС2 получили название  $P700$  и  $P680$ .

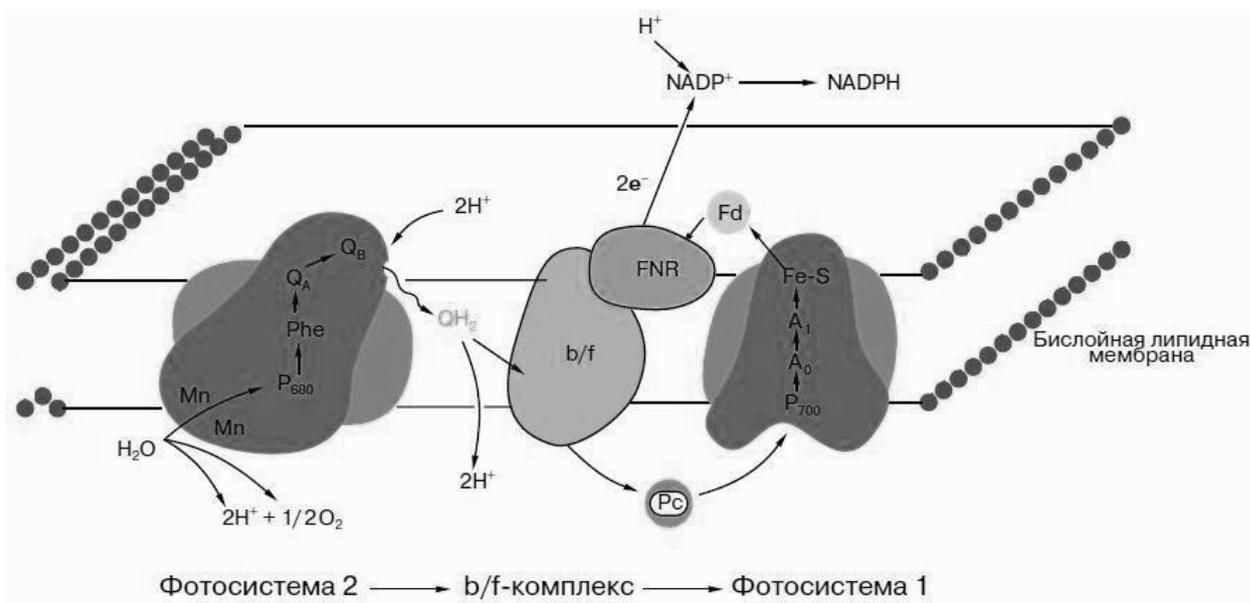
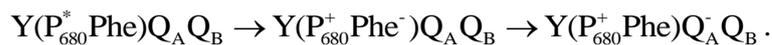


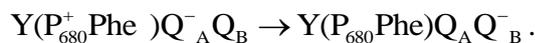
Рис. 3. Схема электрон-транспортной цепи [4].

Две фотосистемы связаны между собой посредством цепи электронных переносчиков. ФС2 является источником электронов для ФС1. Иницируемое светом разделение зарядов в фотореакционных центрах  $P700$  и  $P680$  обеспечивает перенос электрона от воды, разлагаемой в ФС2, к конечному акцептору электрона – молекуле  $NADP^+$ . Цепь электронного транспорта (ЦЭТ), соединяющая две фотосистемы, в качестве переносчиков электрона включает в себя молекулы пластохинона, отдельный электрон-транспортный белковый комплекс (b/f-комплекс) и водорастворимый белок пластоцианин  $P$  [1].

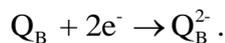
В ФС2 от возбужденного центра электрон переносится сначала на первичный акцептор феофитин ( $Phe$ ), а затем на молекулу пластохинона  $Q_A$ , прочно связанную с одним из



Затем электрон переносится на вторую молекулу пластохинона  $Q_B$ , а получает электрон от первичного донора электрона  $Y$ :

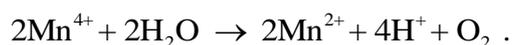


Молекула пластохинона способна принять два электрона. После двукратного срабатывания реакционного центра ФС2 молекула пластохинона  $Q_B$  получит два электрона:



Отрицательно заряженная молекула  $Q_B^{2-}$  обладает высоким сродством к ионам водорода, которые она захватывает из стромального пространства [4]. После протонирования восстановленного пластохинона ( $Q_B^{2-} + 2H^+ \rightarrow QH_2$ ) образуется электрически нейтральная форма этой молекулы  $QH_2$ . Пластохинон  $QH_2$  выполняет роль подвижного переносчика: покинув ФС2, молекула  $QH_2$  может легко перемещаться внутри тилакоидной мембраны, обеспечивая связь ФС2 с другими электронтранспортными комплексами.

Окисленный реакционный центр ФС2 обладает исключительно высоким сродством к электрону, то есть является очень сильным окислителем. Благодаря этому в ФС2 происходит разложение воды – химически устойчивого соединения. Входящий в состав ФС2 водорасщепляющий комплекс (ВРК) содержит в своем активном центре группу *ионов марганца* ( $Mn^{2+}$ ), которые *служат донорами электрона* для Р680 [1]. Отдавая электроны окисленному реакционному центру, ионы марганца становятся “накопителями” положительных зарядов, которые непосредственно участвуют в реакции окисления воды. В результате последовательного четырехкратного срабатывания реакционного центра Р680 в Mn-содержащем активном центре ВРК накапливаются четыре сильных окислительных эквивалента (или четыре “дырки”) в форме окисленных ионов марганца ( $Mn^{4+}$ ), которые, взаимодействуя с двумя молекулами воды, катализируют реакцию разложения воды:



Таким образом, после последовательной передачи четырех электронов от ВРК к Р680 происходит *синхронное разложение сразу двух молекул воды*, сопровождающееся выделением одной молекулы кислорода и четырех ионов водорода, которые попадают во внутритилакоидное пространство хлоропласта [1].

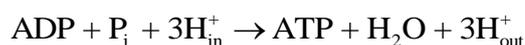
Образовавшаяся при функционировании ФС2 молекула пластохинола  $QH_2$  диффундирует внутри липидного бислоя тилакоидной мембраны к b/f- комплексу. При столкновении с b/f- комплексом молекула  $QH_2$  связывается с ним, а затем передает ему два электрона. При этом на каждую молекулу пластохинола, окисляемую b/f-комплексом, внутрь тилакоида выделяются два иона водорода. В свою очередь, b/f-комплекс служит донором электрона для пластоцианина (Pc) – небольшого водорастворимого белка, у которого в состав активного центра входит ион меди (реакции восстановления и окисления пластоцианина сопровождаются изменениями валентности иона меди  $Cu^{2+} + e^- \leftrightarrow Cu^+$ ) [3]. *Пластоцианин выполняет роль связующего звена между b/f-комплексом и ФС1*. Молекула пластоцианина быстро перемещается внутри тилакоида, обеспечивая перенос электрона от b/f-комплекса к ФС1. От восстановленного пластоцианина электрон поступает непосредственно к окисленным реакционным центрам ФС1. Таким образом, в результате совместного действия ФС1 и ФС2 два электрона от молекулы воды, разлагаемой в ФС2,

через цепь электронного транспорта переносятся в конечном итоге на молекулу NADP<sup>+</sup>, обеспечивая образование сильного восстановителя NADPH [1].

Причина происхождения двух фотосистем заключается в том, что *энергии одного кванта видимого света недостаточно для того, чтобы обеспечить разложение воды и эффективное прохождение электроном всего пути по цепи молекул-переносчиков от воды к NADP<sup>+</sup>*. Появление в ходе эволюции ФС2 в единой цепи переноса электрона вместе с ФС1 решило энергетическую проблему *преодоления большой разницы в окислительно-восстановительных потенциалах* пар кислород/вода и NADP<sup>+</sup>/NADPH. Водоросли и зеленые растения, “научившись” окислять воду, *овладели неисчерпаемым источником электронов* для восстановления NADP<sup>+</sup>. Разлагая воду, они наполнили атмосферу Земли молекулярным кислородом, создав условия для бурного эволюционного развития организмов, энергетика которых связана с аэробным дыханием [3].

Перенос электрона по ЦЭТ, как правило, сопровождается понижением энергии. Однако перенос электрона не является энергетически бесполезным процессом. В нормальных условиях функционирования хлоропластов большая часть энергии, выделяющейся в ходе электронного транспорта, не пропадает бесполезно, а используется для работы специального *энергопреобразующего комплекса, называемого АТФ-синтазой*. Этот комплекс катализирует энергетически невыгодный процесс образования АТФ из АДФ и неорганического фосфата P<sub>i</sub> (реакция  $ADP + P_i \rightarrow ATP + H_2O$ ) [1]. Поэтому энергодонорные процессы электронного транспорта сопряжены с энергоакцепторными процессами синтеза АТФ.

Важнейшую роль в обеспечении энергетического сопряжения в мембранах тилакоидов играют процессы протонного транспорта. Синтез АТФ тесно связан с переносом через АТФ-синтазу трех протонов из тилакоидов ( $3H_{in}^+$ ) в строму ( $3H_{out}^+$ ):



Этот процесс становится возможным вследствие асимметричного расположения переносчиков в мембране. В ходе электронного переноса происходит накопление избыточного количества протонов внутри тилакоида. Ионы водорода *поглощаются снаружи* на стадиях восстановления NADP<sup>+</sup> и образования пластохинола и *выделяются внутри* тилакоидов на стадиях разложения воды и окисления пластохинола. *Освещение хлоропластов приводит к существенному (в 100 – 1000 раз) увеличению концентрации ионов водорода внутри тилакоидов* [1].

## **2.2. Регуляция темновых и световых стадий фотосинтеза.**

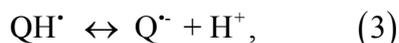
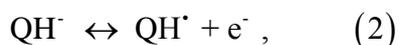
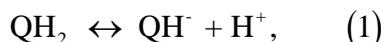
Важнейшей особенностью работы фотосинтетического аппарата является высокая эффективность преобразования энергии солнечного света, умение фотосинтетических систем *адаптироваться* к изменяющимся условиям внешней среды и защищать себя от различных неблагоприятных воздействий. Регуляция фотосинтеза, как и подавляющего большинства других процессов в природе, осуществляется по принципу обратной связи. Скорость регулируемого процесса зависит от результата этого процесса. Как правило, в сложной системе регулируемым процессом является стадия, которая ограничивает скорость работы всей системы. Например, скорость химической реакции может контролироваться

концентрацией конечного или какого-либо промежуточного продукта, образующегося в ходе реакции. Если этот продукт является ингибитором одной из ключевых стадий химического процесса, то накопление данного продукта будет замедлять общую скорость реакции.

### 2.2.1. Фотосинтетический контроль.

Хорошо известным регуляторным явлением является фотосинтетический контроль в хлоропластах. Он состоит в том, что скорость переноса электронов в фотосинтетической цепи электронного транспорта хлоропластов зависит от соотношения между количеством субстратов и продуктов реакции синтеза АТФ ( $ADP + P_i \rightarrow ATP + H_2O$ ). При избытке субстратов этой реакции ( $ADP$  и  $P_i$ ) скорости переноса электронов поддерживаются на максимальных уровнях. В этих условиях идет интенсивный синтез молекул АТФ (хлоропласты находятся в метаболическом состоянии 3). После того как наступает истощение молекул  $ADP$  и появляется избыток АТФ, скорость электронного транспорта замедляется. Торможение электронного транспорта, обусловленное образованием избыточного количества конечного продукта (АТФ), связывают с переходом хлоропластов в состояние фотосинтетического контроля (метаболическое состояние 4). Ключевую роль в явлениях фотосинтетического контроля играют процессы протонного транспорта, сопряженного с реакциями синтеза АТФ [4].

Работа фотосинтетической цепи электронного транспорта приводит к накоплению ионов водорода внутри тилакоидов и, следовательно, к уменьшению внутритилакоидного рН. Специальные измерения показали, что значение рН внутритилакоидного пространства ( $pH_{in}$ ) при освещении хлоропластов может понижаться на 2,5–3 единицы рН [4]. Закисление внутритилакоидного пространства вызывает торможение электронного транспорта. Это происходит на самом медленном участке в цепи переноса электронов от воды к  $NADP^+$  – на стадии окисления пластохинола. Скорость окисления пластохинола зависит от концентрации ионов водорода внутри тилакоидов: чем выше их концентрация (ниже значение  $pH_{in}$ ), тем медленнее происходит окисление  $QH_2$ . Связано это с тем, что переносу электронов от пластохинола ( $QH_2$ ) и его полувосстановленной формы пластосемихинона ( $QH\cdot$ ) к b/f-комплексу (реакции (2) и (4)) предшествуют стадии диссоциации протона во внутритилакоидный объем (реакции (1) и (3)):



Заряженные формы пластохинола ( $QH^-$ ) и пластосемихинона ( $Q^{\cdot-}$ ) являются непосредственными донорами электрона для b/f-комплекса [3]. Реакции диссоциации (1) и (3), в ходе которых образуются активные формы восстановленного пластохинона  $QH^-$  и  $Q^{\cdot-}$ , зависят от рН внутри тилакоидов. По мере увеличения концентрации ионов водорода во внутритилакоидном пространстве вероятность диссоциации протона уменьшается, так как в этом случае за счет повышенного давления протонов равновесие в реакциях (1) и (3) сдвигается влево, то есть в сторону образования неактивных протонированных форм

пластохинола ( $QH_2$ ) и пластосемихинона ( $QH^+$ ) [4]. Именно поэтому накопление ионов водорода внутри тилакоидов вызывает замедление скорости электронного транспорта.

Молекулы ADP и ATP сами непосредственно не взаимодействуют с цепью электронного транспорта. Они влияют на выход протонов из тилакоидов наружу через ATP-синтазный комплекс. Реакции синтеза ATP сопряжены с переносом протонов через ATP-синтазу. При избытке молекул ADP скорость работы ATP-синтазного комплекса велика. Это значит, что наряду с поступлением протонов внутрь тилакоидов происходит их интенсивный выход наружу через ATP-синтазу. Поэтому в условиях синтеза ATP не происходит столь сильного закисления внутритилакоидного пространства, которое могло бы вызвать торможение электронного транспорта. После истощения запаса молекул ADP синтез ATP практически останавливается, а вместе с этим резко снижается скорость выхода протонов наружу. При этом, однако, цепь переноса электронов работает, поэтому протоны продолжают поступать внутрь тилакоидов. Поскольку при отсутствии ADP канал быстрого выхода протонов наружу через ATP синтазу практически закрыт, то после истощения ADP концентрация протонов внутри тилакоидов увеличится и соответственно значение внутритилакоидного pH ( $pH_{in}$ ) дополнительно понизится. Уменьшение  $pH_{in}$  замедляет окисление пластохинола и тем самым тормозит перенос электронов между ФС2 и ФС1.

Таким образом, в условиях, когда в хлоропластах имеется избыток субстратов фосфорилирования (ADP и  $P_i$ ), скорость электронного транспорта поддерживается на высоком уровне и соответственно при этом велика скорость синтеза ATP (состояние 3). В то же время если потребность в синтезе ATP мала (в хлоропластах имеется избыток ATP), то работа цепи электронного транспорта замедляется (состояние 4). После того как запасы ATP в хлоропластах будут исчерпаны (например, за счет гидролиза ATP в реакциях цикла Кальвина) и появится избыток молекул ADP, включатся в работу ATP-синтазные комплексы, в результате чего уменьшится концентрация ионов водорода внутри тилакоидов и снова возрастет скорость электронного транспорта.

### **2.2.2. Перераспределение энергии возбуждения между фотосистемами.**

В 1977 году Дж. Беннет обнаружил, что после освещения хлоропластов в присутствии ATP фосфорилируется один из полипептидов, входящих в состав так называемого лабильного светособирающего комплекса хлоропластов [3]. Впоследствии было установлено, что это явление может иметь непосредственное отношение к регуляции распределения энергии света между ФС1 и ФС2. В хлоропластах *для согласования совместной работы двух фотосистем* должен существовать механизм, обеспечивающий оптимальное распределение энергии поглощаемого света между светособирающими антеннами комплексов ФС1 и ФС2. Необходимость существования такого механизма очевидна. Действительно, если, например, светособирающая антенна ФС2 получает существенный избыток квантов света по сравнению с ФС1, то эффективность использования энергии света в ФС2 будет невелика. В этом случае за счет более частого срабатывания реакционных центров ФС2 на участке цепи электронного транспорта между ФС2 и ФС1 *накопится избыток восстановленных переносчиков, которые не будут успевать окисляться редко работающими реакционными центрами ФС1*. Этого можно избежать, если изменить соотношение между размерами светособирающих антенн ФС1 и ФС2, увеличив размер антенны ФС1 за счет уменьшения антенны ФС2.

Для регуляции распределения света в хлоропластах наряду с основными светособирающими пигментными комплексами, жестко связанными с ФС1 и ФС2, имеется лабильный (подвижный) светособирающий комплекс 2 (сокращенно ССК2). Этот комплекс выполняет роль дополнительной антенны, предназначенной для усиления светосбора одной из фотосистем [1]. В хлоропластах комплексы ФС1 и ФС2 находятся в мембранах тилакоидов гран и межгранных тилакоидов. Однако распределены они между этими тилакоидами неравномерно. Основная часть комплексов ФС1 локализована в межгранных тилакоидах, в то время как большинство комплексов ФС2 находится в тилакоидах гран [1]. Предполагается, что в условиях низкой освещенности ССК2 располагаются в основном в тилакоидах гран рядом с ФС2, благодаря чему общий размер светособирающей антенны ФС2 увеличен. Однако в определенных условиях, когда возникает необходимость увеличить эффективность работы ФС1, этот лабильный светособирающий комплекс покидает ФС2 и, перемещаясь в плоскости мембраны в сторону межгранных тилакоидов, стыкуется с ФС1. Сигналом для срабатывания механизма, вызывающего перемещение ССК2, служит образование избытка восстановленных переносчиков в цепи электронного транспорта между фотосистемами [4]. Такой избыток может возникать, например, при более частом срабатывании реакционных центров ФС2 по сравнению с ФС1. Перемещение ССК2 к ФС1 помогает хлоропластам разгрузить цепь переноса электронов между фотосистемами за счет более частого срабатывания ФС1.

Механизм перераспределения ССК2 между светособирающими антеннами ФС2 и ФС1 связан с *фосфорилированием одной из субъединиц этого комплекса*. Переполнение цепи электронного транспорта служит сигналом для включения в работу *протеинкиназы – фермента, катализирующего перенос фосфата с молекулы АТФ на ССК2* [4]. В результате такой модификации ССК2 *теряет связь с ФС2*. Предполагается, что фосфорилированный комплекс выталкивается из тилакоидов гран, где сосредоточена большая часть ФС2, и перемещается в межгранные тилакоиды, обогащенные комплексами ФС1. Силы, вытесняющие фосфорилированные комплексы ССК2 из гран, имеют электростатическую природу [1]. После присоединения к ССК2 отрицательно заряженного фосфата им становится энергетически невыгодно находиться вблизи друг от друга в тилакоидах гран, которые тесно примыкают друг к другу. Поэтому фосфорилированные комплексы ССК2 перемещаются в межгранные тилакоиды, которые пространственно разнесены. В результате такой структурной реорганизации размеры светособирающей антенны ФС2 уменьшаются, а ФС1 увеличиваются. Этим достигается *оптимальное распределение поглощаемой энергии света между фотосистемами*, когда скорость поступления электронов от ФС2 оказывается согласованной с частотой срабатывания реакционных центров ФС1.

## 2.3. Флуоресцентные методы в изучении фотосинтеза

Источником флуоресценции в растительной клетке являются светособирающие молекулы пигментов, причём подавляющая часть флуоресценции в нормальных условиях происходит от хлорофилла а (Хл а) ФС2 [1].

Квантовый выход флуоресценции (отношение числа испущенных квантов к числу поглощённых) равен:

$$qF = \frac{k_F}{k_F + k_P + k_D + k_T}$$

где  $k_F$  – константа скорости флуоресценции;

$k_P$  – константа фотохимической реакции;

$k_D$  – константа тепловой дезактивации;

$k_T$  – константа переноса энергии возбуждения к нефлуоресцирующим пигментам.

Квантовый выход флуоресценции хлорофилла а в листе составляет около 2-8% со средним временем жизни около 300 пс (для “открытых” РЦ) и около 1,6 нс (для “закрытых” РЦ). Вклад ФС1 в сигнал флуоресценции при комнатной температуре < 20% [3].

### 2.3.1. Индукционные изменения флуоресценции фотосинтезирующих объектов.

При освещении зелёного листа после периода темновой адаптации, интенсивность флуоресценции, как правило, претерпевает ряд немонотонных изменений (эффект Каутского).

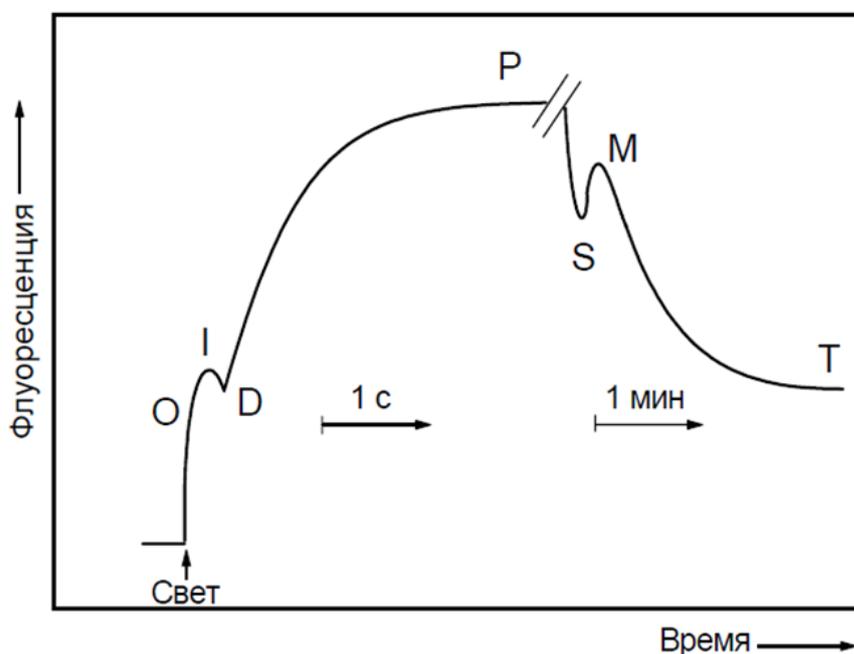


Рис. 4. Схема индукционных изменений флуоресценции зелёного листа [6].

Изменения O-I-D-P называют первой волной, или быстрой индукцией флуоресценции (БИФ). Она протекает за 1-3 с в зависимости от интенсивности света и других факторов. Более медленные изменения P-S-M-T известны как вторая волна, или медленная индукция флуоресценции (МИФ). Эти изменения протекают за времена от нескольких десятков секунд, до нескольких минут в зависимости от объекта и условий эксперимента.

Большую роль в интерпретации БИФ сыграла гипотеза Дюйзенса и Свирса [6], в которой флуоресценция и первичные реакции фотосинтеза рассматриваются как конкурирующие

процессы. В соответствии с этой гипотезой индукционные изменения флуоресценции связаны с изменением окислительно-восстановительного состояния первичного акцептора электронов ФС2 пластохинона Q. В адаптированных к темноте хлоропластах Q находится в окисленном состоянии и способен принимать электроны от Хл а ФС2, гася таким образом флуоресценцию в силу электронного потока от H<sub>2</sub>O к Q (уровень O на рис. 4). По мере восстановления Q (например, из-за насыщения пула переносчиков между фотосистемами и после ФС1) поток электронов уменьшается и флуоресценция увеличивается. Квазистационарный, в рамках БИФ, уровень P отражает, таким образом, динамическое равновесие реакций восстановления Q через ФС2 и его окисления последующими переносчиками электронов [6].

Однозначная интерпретация МИФ в литературе отсутствует. Согласно одной из гипотез [7], стадия **P-S** связана с началом активации цикла Кальвина, при этом возрастает циклический поток электронов в ФС1. Наиболее быстро на свету активируется терминальный фермент ЭТЦ Фд-НАДФ<sup>+</sup>-редуктаза: уже через несколько секунд освещения он приобретает способность «оттягивать» через цепи переноса электроны от первичного акцептора Q, и флуоресценция хлорофилла уменьшается. Тушение флуоресценции на этой стадии частично связано с образованием градиента протонов ΔpH на мембране. Стадия **S-M** – замедление электронного транспорта между ФС вследствие установления протонного градиента. Это приводит к повышению уровня восстановленности Q, т.к. его окисление зависит от концентрации протонов у внутренней поверхности мембраны тилакоида. Восстановленные молекулы Q активируют фермент, катализирующий фосфорилирование белков ССК ФС2. На этой же стадии начинается использование синтезированного АТФ в цикле Кальвина. Стадия **M-T** – продолжается структурная перестройка мембран и переход части ССК из области гран в область стромы. Включение цикла Кальвина снимает блокировку нециклического электронного потока [7].

Таким образом, можно констатировать, что МИФ фотосинтезирующих объектов является отражением системы регуляторных механизмов фотосинтеза. Тушение флуоресценции подразделяют на фотохимическое (Qp) и нефотохимическое (Qn) [5].

Фотохимическое тушение Qp зависит от окислительно-восстановительного состояния первичных акцепторов (Q) электронов ФС2. В адаптированных к темноте хлоропластах Q находится в окисленном состоянии и способен принимать электроны от хлорофилла а ФС2, гася таким образом флуоресценцию в силу электронного потока от H<sub>2</sub>O к Q [7].

Нефотохимическое тушение, в свою очередь, обычно разделяют на 3 компонента:

1. Энергетическое тушение (qE), зависящее от величины ΔpH на тилакоидной мембране.
2. Тушение, относящееся к переходу “состояние 1” – “состояние 2” (qT), вследствие фосфорилирования белков ССК2 и перераспределения энергии возбуждения в пользу ФС1.
3. Тушение, связанное с фотоингибированием фотосинтеза (qI) (усиление безызлучательной диссипации энергии при повышенной освещённости) .

Вклад каждого механизма в суммарную величину Qn зависит от интенсивности света. Тушение qT преобладает при низком, а qE и qI – при высоком освещении [5].

### 2.3.2. Спектры флуоресценции листьев растений.

Спектры флуоресценции хлорофилла зеленого листа, как правило, имеют два широких максимума в красной области спектра: один на длине волны 680–690 нм (F1), другой на длине волны 730–740 нм (F2) (рис. 5) [2].

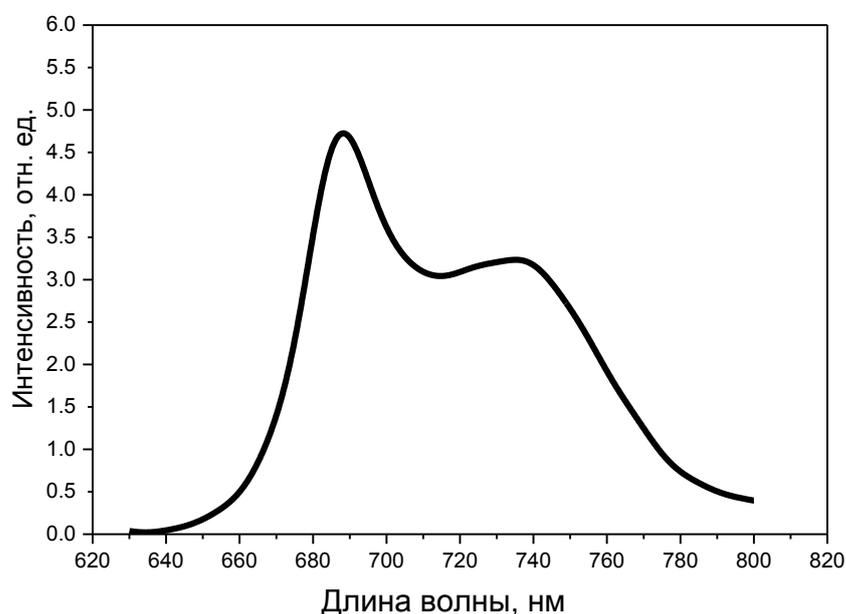


Рис. 5. Характерный вид спектра флуоресценции хлорофилла зеленого листа

Существует несколько точек зрения на механизм возникновения люминесценции в области 680 и 730 нм. Предполагается, что флуоресценция на длине волны около 685 нм обусловлена хлорофиллом фотосистемы 2 (ФС2), а на длине волны 730 нм – ФС1 [2]. Считается также, что соотношение максимумов в спектре флуоресценции определяется степенью агрегированности форм хлорофилла и реабсорбцией излучения [24,25].

Для количественной характеристики формы спектра был введен параметр  $\omega$ , равный отношению максимальных значений интенсивности флуоресценции в области 730–750 нм и 685 нм ( $\omega = F_{740}/F_{685}$ ). Этот параметр зависит от целого ряда факторов: характера минерального питания, концентрации  $CO_2$ , освещенности и длительности светового дня, влажности почвы и воздуха и др., причем оптимальным условиям развития растений всегда соответствуют максимальные значения [2].

Кроме того, в ряде работ были зарегистрированы однонаправленные изменения этого показателя и содержания хлорофилла в листьях растений. Подобная корреляция была установлена для растений, выращенных в условиях различного минерального питания, в ходе осенней деградации хлорофилла и ряде других случаев [8].

### 2.3.3. Импульсная флуориметрия.

Измерительная система РАМ-флуориметра селективно регистрирует выход флуоресценции на частоте следования микросекундных импульсов.

$F_0$  – выход флуоресценции хлорофилла под действием модулированного возбуждающего света низкой интенсивности;

$F_m$  – максимальный выход флуоресценции адаптированного к темноте листа, индуцированный насыщающим импульсом света;

$F_m'$  – максимальный выход флуоресценции, индуцированный насыщающим импульсом света у освещенного листа;

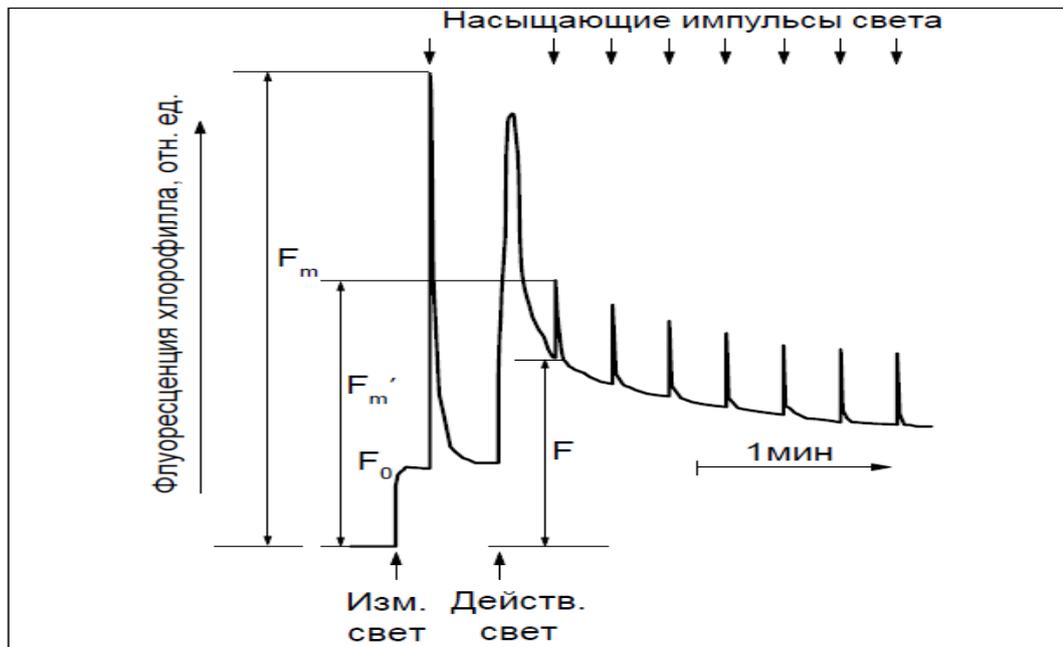


Рис. 6. Протокол измерений флуоресценции с помощью импульсного флуориметра. [5]

$F$  – выход флуоресценции хлорофилла при освещении листа постоянным действующим светом.

Включение модулированного измерительного света низкой интенсивности возбуждает уровень флуоресценции  $F_0$ . Этот уровень определяется флуоресценцией хлорофилла в условиях, когда все РЦ находятся в «открытом» рабочем состоянии и способны тушить флуоресценцию антенны, поскольку все молекулы первичного акцептора  $Q_A$  готовы принять электрон от P680. Если все молекулы  $Q_A$  восстановлены (под действием насыщающего импульса света), то РЦ «закрыты». Поэтому энергия электронного возбуждения большей частью возвращается в антенну и уровень флуоресценции становится максимальным ( $F_m$ ) [5]. Разница между  $F_m$  и  $F_0$  называется переменной флуоресценцией ( $F_v = F_m - F_0$ ). Она обусловлена той частью световой энергии, которая использовалась в первичных реакциях фотосинтеза при открытых РЦ. В адаптированных к темноте листьях все центры фотохимически активны и флуоресценция соответствует уровню  $F_0$ . При освещении их насыщающей вспышкой флуоресценция становится максимальной ( $F_m$ ) и быстро релаксирует в темноте до исходного уровня. Параметр  $F_v/F_m$  характеризует «эффективность использования света ФС2» или, по-другому, «максимальный квантовый выход фотохимических превращений в ФС2» [6].

Коэффициенты тушения обычно рассчитывают, исходя из уменьшения так называемой переменной флуоресценции:  $q = \frac{F_v - F'_v}{F_v}$ ,

где  $F_v$  – максимальная переменная флуоресценция в соответствующий момент времени, а  $F'_v$  – переменная флуоресценция в «состоянии тушения».

Так, для нефотохимического тушения:  $Q_n = \frac{(F_m - F_0) - (F'_m - F_0)}{F_m - F_0} = \frac{F_m - F'_m}{F_m - F_0}$

Для фотохимического тушения соответственно получим:  $Q_p = \frac{(F'_m - F_0) - (F - F_0)}{F'_m - F_0} = \frac{F'_m - F}{F'_m - F_0}$

Параметр  $\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m}$  характеризует эффективность работы фотосистемы 2 [5].

### 3. Методика проведения экспериментов

Объектами исследований служили листья бобов *Vicia faba* L. (сорт “Русские черные”) и дуба *Quercus rubra* L. При измерениях преимущественно использовали листья второго яруса бобов, считая снизу. Растения бобов выращивали в лабораторных условиях при комнатной температуре. Измерения на листьях дуба проводили в осенний период (октябрь-ноябрь 2015г.).

#### 3.1. Регистрация индукции флуоресценции.

Индукцию флуоресценции регистрировали с помощью портативного импульсного флуориметра PAM-2500.



Рис. 7. Внешний вид импульсного флуориметра PAM-2500.

Флуоресценция возбуждается слабыми по интенсивности импульсами измерительного света, а состояние фотосинтетического аппарата изменяется с помощью постоянного действующего света и мощных по интенсивности импульсов, восстанавливающих первичные акцепторы ФС2. Общее время регистрации составляло 11 минут. Рассчитывались коэффициенты  $Q_p$  и  $Q_r$ . Разделение фото- и нефотохимического тушения происходит при подаче насыщающих вспышек.

### 3.2. Регистрация спектров флуоресценции.

Спектры флуоресценции листьев растений измеряли на спектрофлуориметре Solar CM2203. Лист отделяли от стебля, помещали в держатель, освещали светом с длиной волны 450 нм интенсивностью около 150 Вт/м<sup>2</sup>.

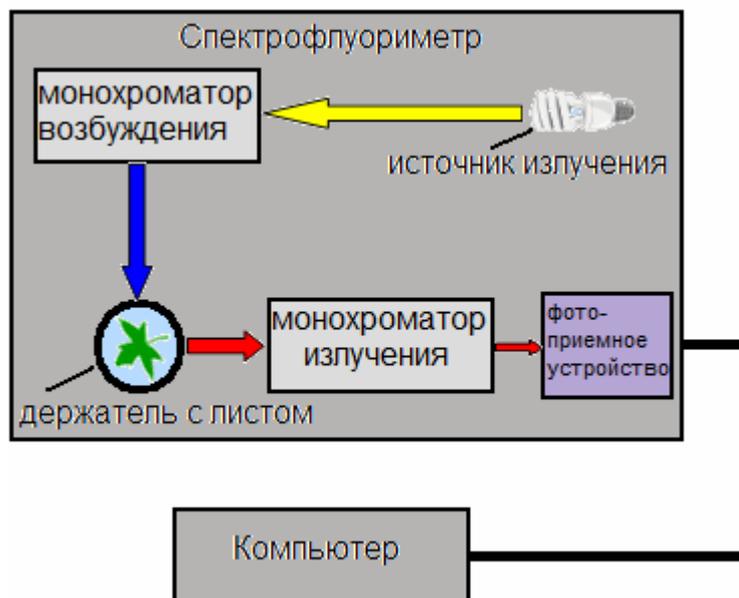


Рис. 8. Схема установки для измерения спектров флуоресценции.

Спектры флуоресценции листьев растений одного и того же яруса несколько отличались по интенсивности. В качестве основной измеряемой характеристики было выбрано отношение интенсивностей флуоресценции на длинах волн 740 нм и 685 нм. Из соображений унификации и стандартизации эксперимента рассматривали относительные характеристики (показатель  $\omega = F740/F685$ ) и усредненные значения интенсивностей флуоресценции. Усреднение производили по трем спектрам флуоресценции, полученным на разных листьях.

### 3.3. Измерения содержания хлорофилла.

Содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях растений определяли по методу, описанному в [8]. Навеску листьев массой 120 мг растирали в фарфоровой ступке, добавляя 100%-ный ацетон. Полученную вытяжку фильтровали через стеклянный фильтр с помощью водоструйного насоса и доводили её объём до 25 мл. Спектры поглощения полученного раствора измеряли на двухлучевом спектрофотометре AE-UV1602 и находили значение оптической плотности на длинах волн 649 нм и 665 нм, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов *a* и *b* в 80%-ном ацетоне. Концентрацию хлорофилла определяли по формулам Ветштейна [8]:

$$C_a = 9.78 \cdot D_{662} - 0.99 \cdot D_{644}; \quad C_b = 21.42 \cdot D_{644} - 4.65 \cdot D_{662};$$

$$C_{a+b} = 5.13 \cdot D_{662} + 20.43 \cdot D_{644};$$

где *C* – концентрация хлорофилла в растворе, *D* – соответствующая оптическая плотность.

## 4. Результаты и их обсуждение.

Работа состоит из трёх частей. В первой изучались зависимости люминесцентных показателей листьев дуба от концентрации хлорофилла. Во второй были получены спектры флуоресценции листьев бобов, выращенных при разной освещенности. В третьей исследовались люминесцентные характеристики листьев бобов при пониженном содержании хлорофилла при разной интенсивности действующего (актиничного) света.

### 4.1 Люминесцентные характеристики листьев дуба в условиях осенней деградации хлорофилла.

На рис. 9 изображены индукции флуоресценции для шести образцов. Номера 1, 2 и 3 соответствуют наиболее зеленым листьям, номера 4, 5 и 6 – наиболее жёлтым.

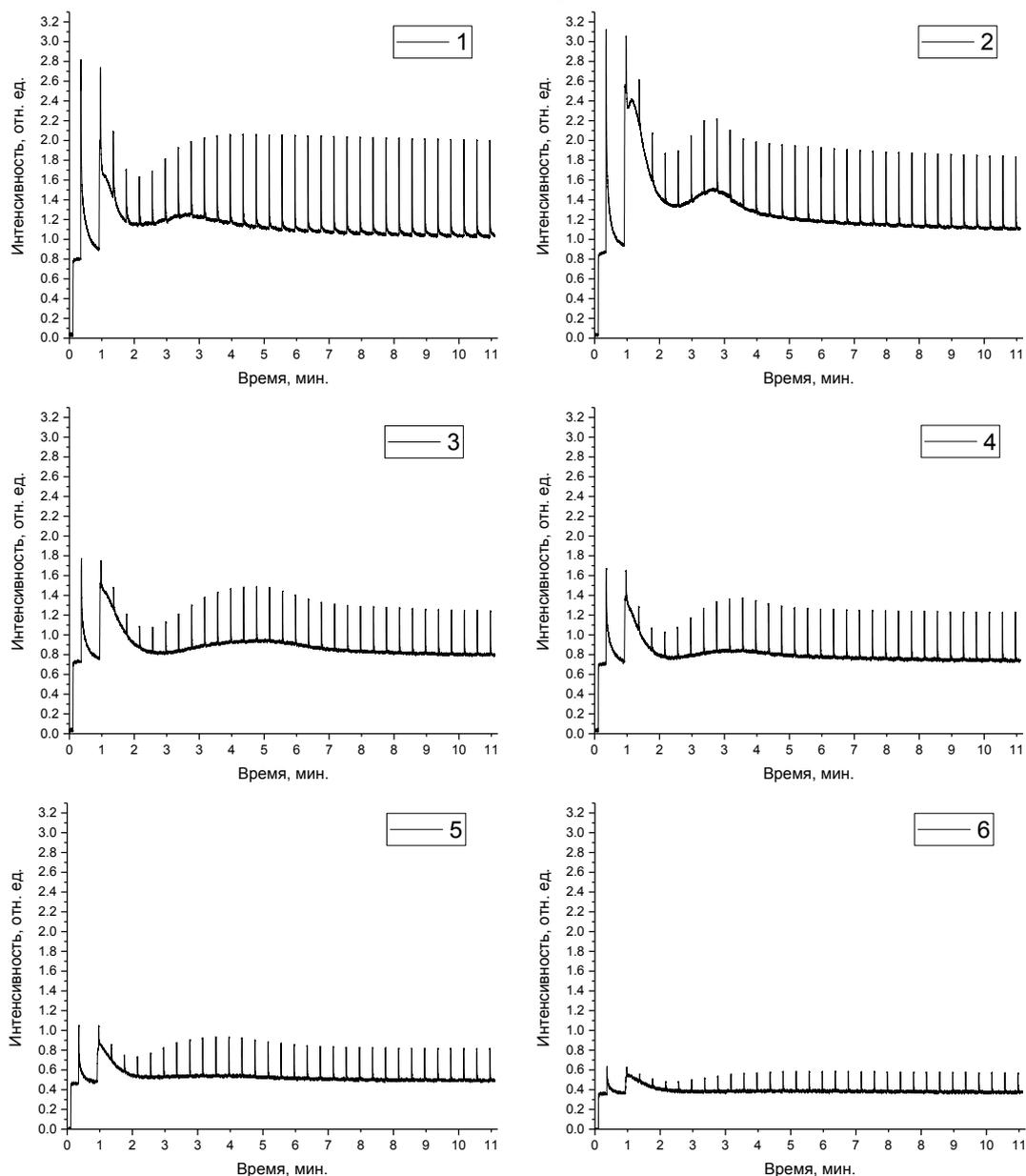


Рис. 9. Индукции флуоресценции листьев дуба.

В ходе осенней деградации хлорофилла в листе наблюдается снижение интенсивности флуоресценции (образцы 4,5,6 по сравнению с образцами 1,2,3).

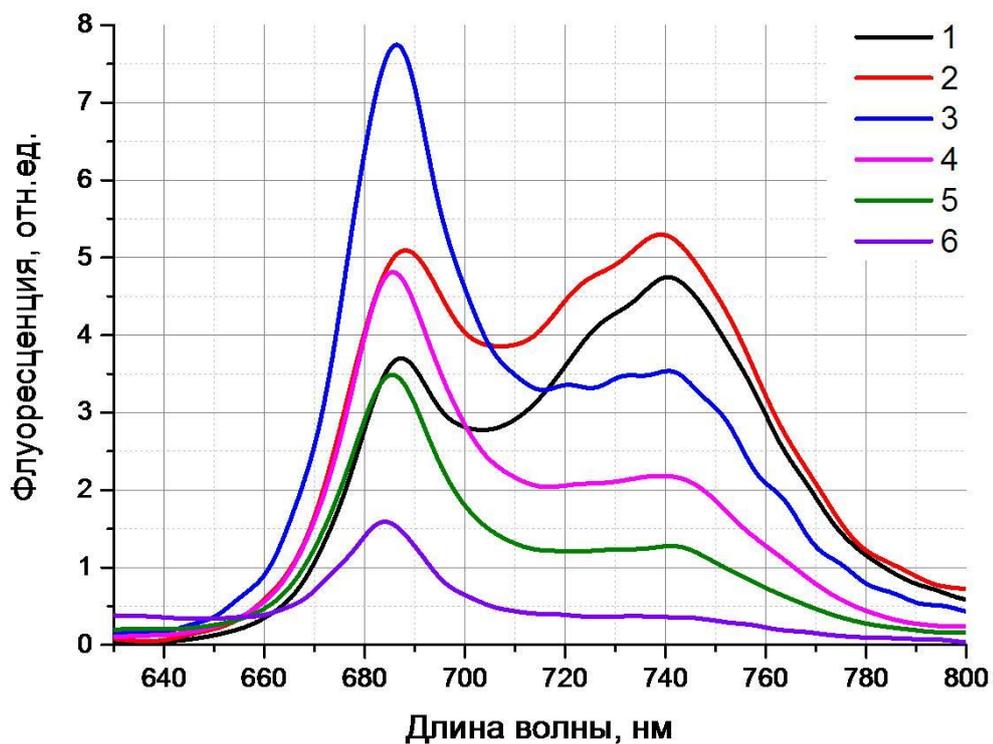


Рис. 10. Спектры флуоресценции листьев дуба. Спектральный параметр  $\omega$  рассчитан на основе полученных спектров флуоресценции листьев дуба. На рис. 10 приведены графики одной из серий спектров листьев.

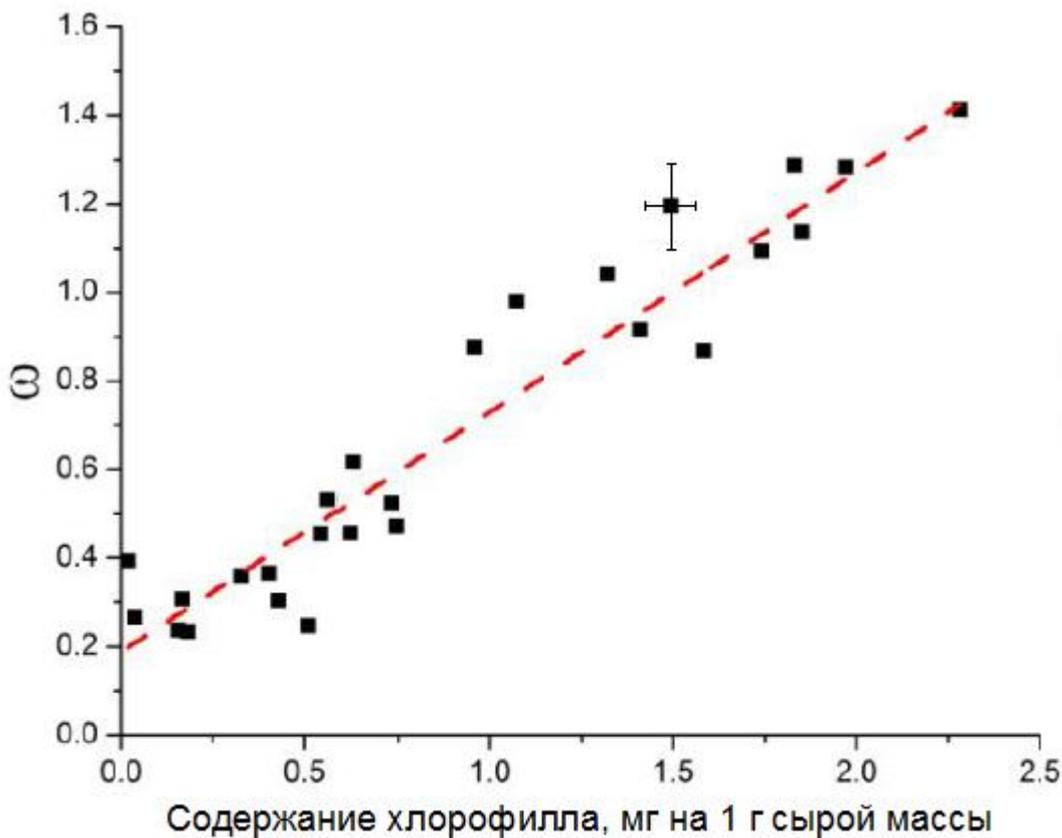


Рис. 11. Зависимость величины спектрального параметра  $\omega$  от содержания хлорофилла в листьях дуба.

Выявлена высокая корреляция между параметром  $\omega$  спектра флуоресценции и содержанием хлорофилла в листе. Коэффициенты корреляции составляли 0,91. Эти результаты подтверждают данные о высокой корреляции между значением  $\omega$ , с одной стороны, и содержанием хлорофилла в листе – с другой, полученные рядом авторов.

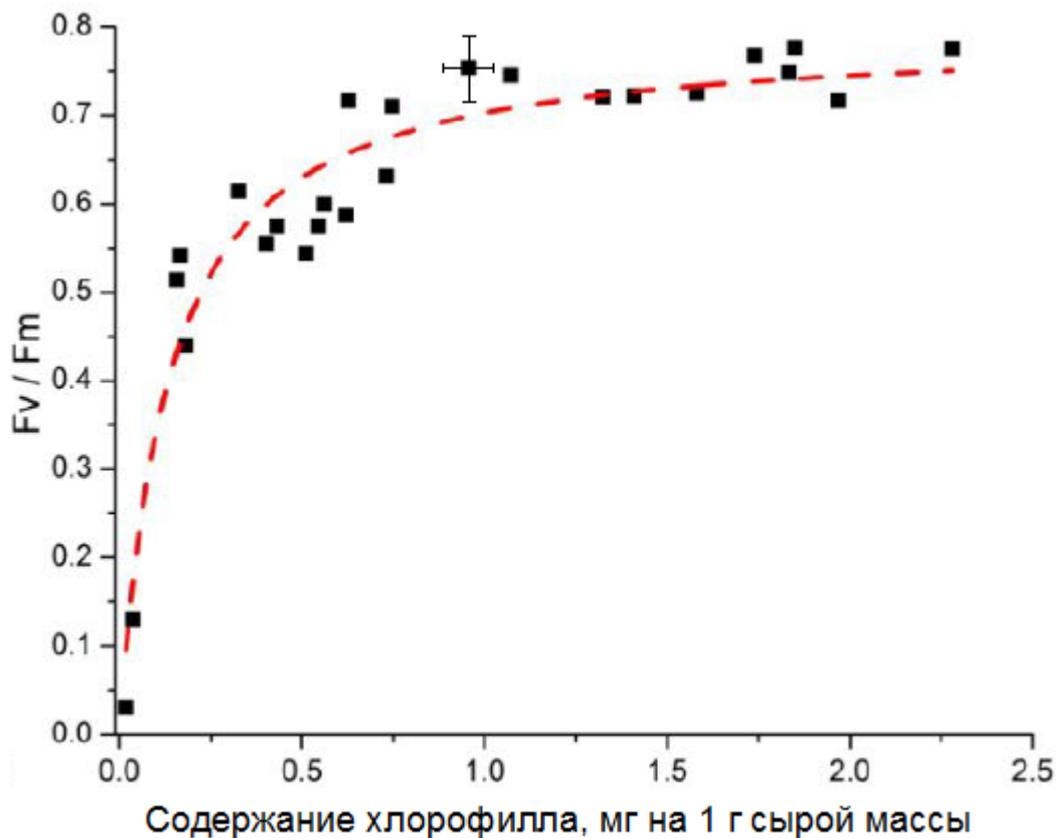


Рис. 12. Зависимость параметра  $F_v/F_m$  от содержания хлорофилла в листьях дуба.

Значения  $F_v/F_m$  оставались практически неизменными вплоть до существенного снижения содержания хлорофилла в листе, что свидетельствует о сохранении высокой фотохимической активности ФС2.

## 4.2 Спектры флуоресценции листьев бобов при пониженной освещённости.

Всего в работе использовали шесть вариантов растений, выращенных при средней освещенности 5 ÷10, 20÷30, 30÷40, 150÷200, 500÷600 и 3000 лк. Использование различных световых режимов при выращивании оказывает воздействие на внешний вид проростков. Для растений, выращенных при низких интенсивностях света, были характерны длинные стебли, тонкие вытянутые листья с бледно-зеленой окраской. При относительно высоких интенсивностях света (200 лк и более) растения имели хорошо развитые листья, сбалансированный рост, насыщенную зеленую окраску.

|                                      | Интенсивность (лк) |
|--------------------------------------|--------------------|
| 5. Доп. освещение лампой             | 3000               |
| 4. Естественный свет                 | 150-200            |
| 3. Отсутствие прямых солнечных лучей | 30-40              |
| 2. Слабое затенение                  | 20-30              |
| 1. Сильное затенение                 | 10                 |

Растения, выращенные при разной освещенности, существенно отличались по содержанию хлорофилла. По мере уменьшения освещённости растений бобов при выращивании содержание хлорофилла в их листьях постепенно уменьшается (рис. 14):

1.  $c_a = 0.898 \pm 0.016$  мг/л  $c_b = 0.27 \pm 0.05$  мг/л  $c_{a+b} = 1.168 \pm 0.066$  мг/л
2.  $c_a = 0.989 \pm 0.056$  мг/л  $c_b = 0.232 \pm 0.079$  мг/л  $c_{a+b} = 1.221 \pm 0.023$  мг/л
3.  $c_a = 1.944 \pm 0.297$  мг/л  $c_b = 0.684 \pm 0.105$  мг/л  $c_{a+b} = 2.623 \pm 0.397$  мг/л
4.  $c_a = 3.184 \pm 0.163$  мг/л  $c_b = 1.262 \pm 0.004$  мг/л  $c_{a+b} = 4.446 \pm 0.159$  мг/л
5.  $c_a = 3.436 \pm 0.353$  мг/л  $c_b = 1.206 \pm 0.032$  мг/л  $c_{a+b} = 4.641 \pm 0.384$  мг/л

На рис. 13 представлены усреднённые спектры флуоресценции для пяти точек выращивания растений.

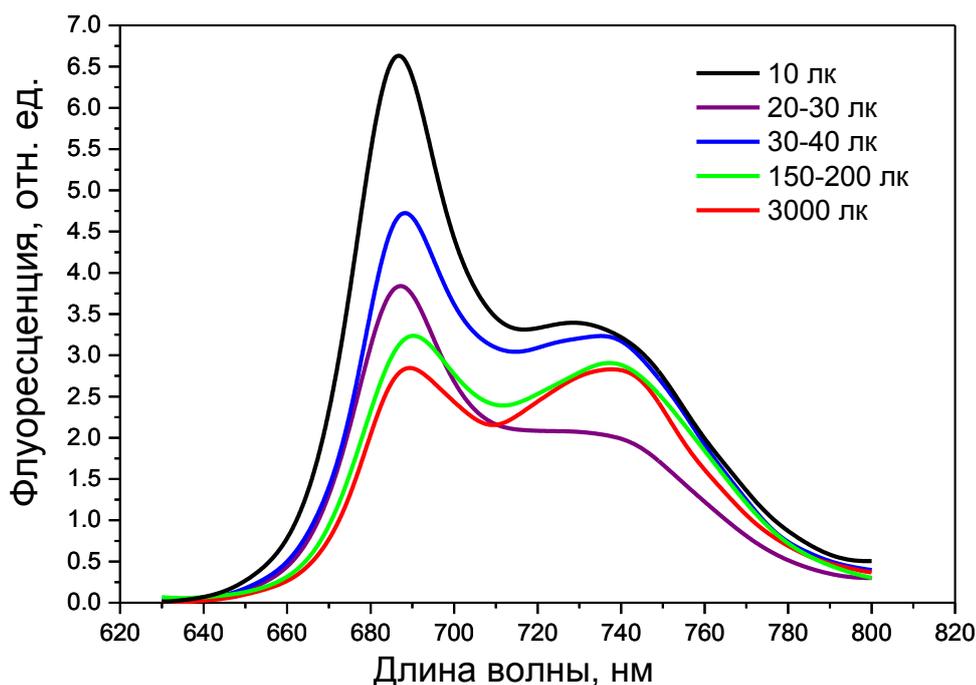


Рис. 13. Спектры испускания флуоресценции листьев бобов.

Была построена зависимость параметра  $\omega$  от суммарного содержания хлорофилла (Хл а + Хл b) (рис. 14).

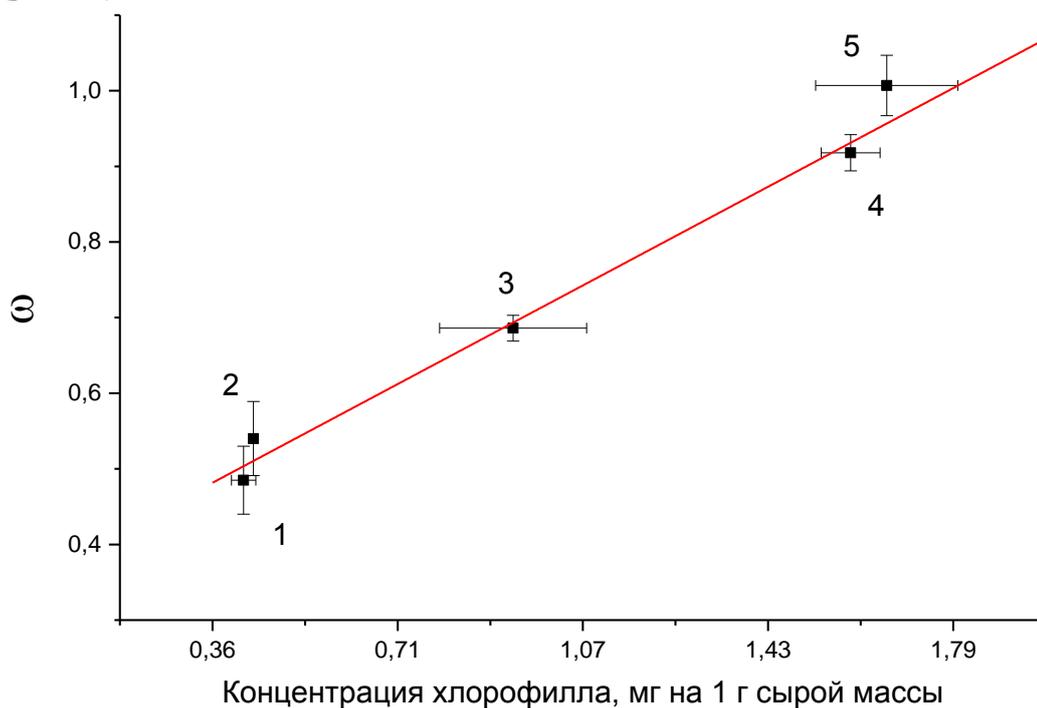


Рис. 14. Зависимость параметра  $\omega$  от содержания хлорофилла в листьях бобов.

В этих опытах была установлена линейная зависимость между концентрацией хлорофилла в листе с одной стороны, и параметром  $\omega$  - с другой (рис. 14). Точки на графике соответствуют средним значениям, полученным из трёх листьев соответствующего варианта. Коэффициент корреляции составил 0.96.

### 4.3 Люминесцентные характеристики листьев бобов при пониженном содержании хлорофилла при разной интенсивности действующего (актиничного) света.

В данной части работы исследованы люминесцентные характеристики листьев бобов, выращенных при освещенностях  $5 \div 10$ ,  $30 \div 40$  и  $150 \div 200$  лк. Измерения проводили на импульсном флуориметре РАМ-2500. При измерениях использовались две интенсивности актиничного света: 500 и 150 мкЭ (микроэйнштейн). Для каждой освещенности было выбрано три листа со второго яруса растения. Ниже приведены характерные зависимости индукционных изменений флуоресценции от времени освещения:

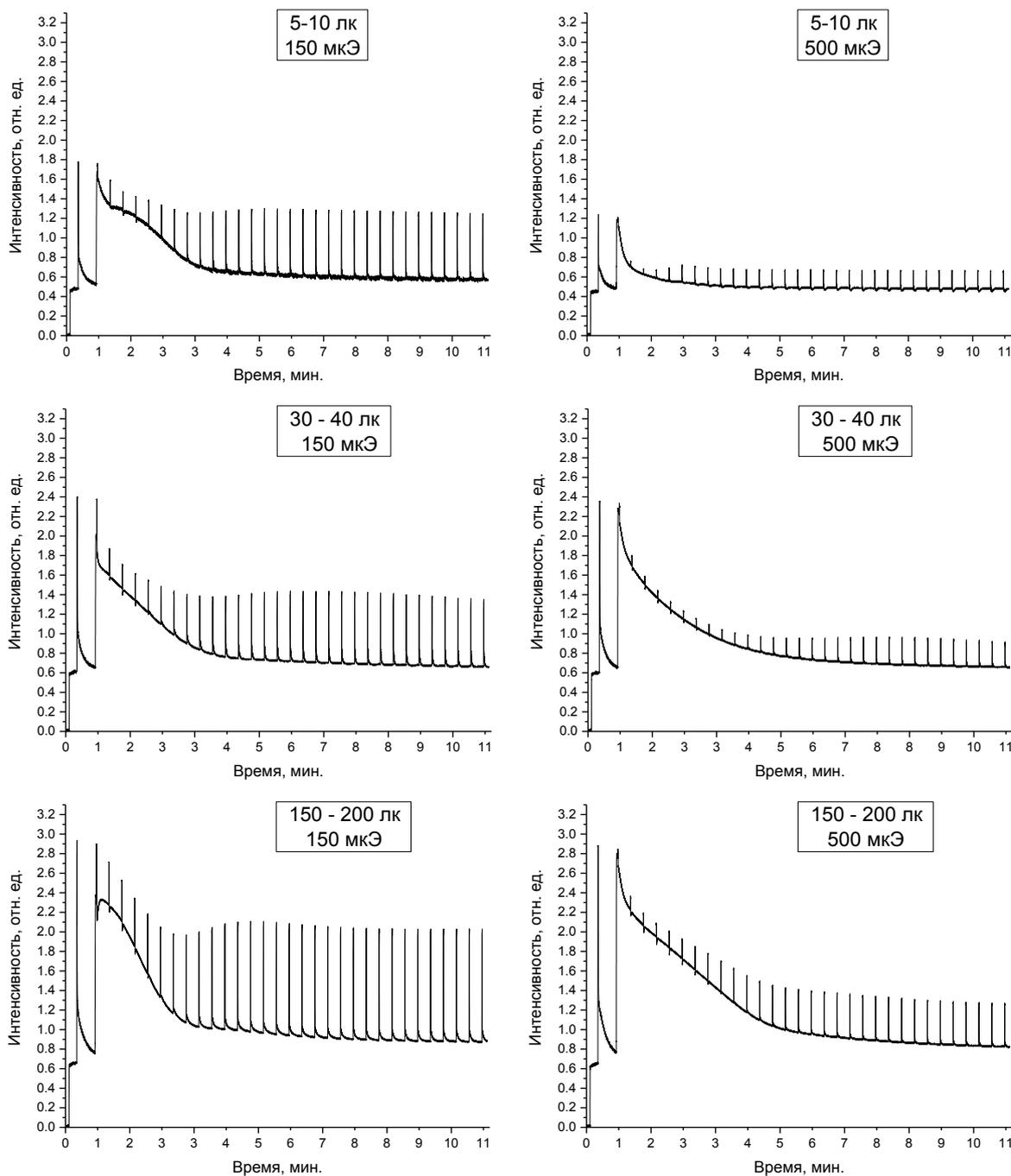


Рис. 15. Индукционные изменения флуоресценции листьев бобов.

Наблюдаются следующие изменения для величины  $F_m'$  (интенсивность флуоресценции листа при подаче вспышки света насыщающей интенсивности):

- 1) Для индукции флуоресценции листьев при освещении актиничным светом интенсивности 150 мкЭ и 500 мкЭ величина  $F_m'$  увеличивается.
- 2) Величина  $F_m'$  для листьев «500 мкЭ» значительно меньше величины флуоресценции  $F_m$  для листьев «150 мкЭ».

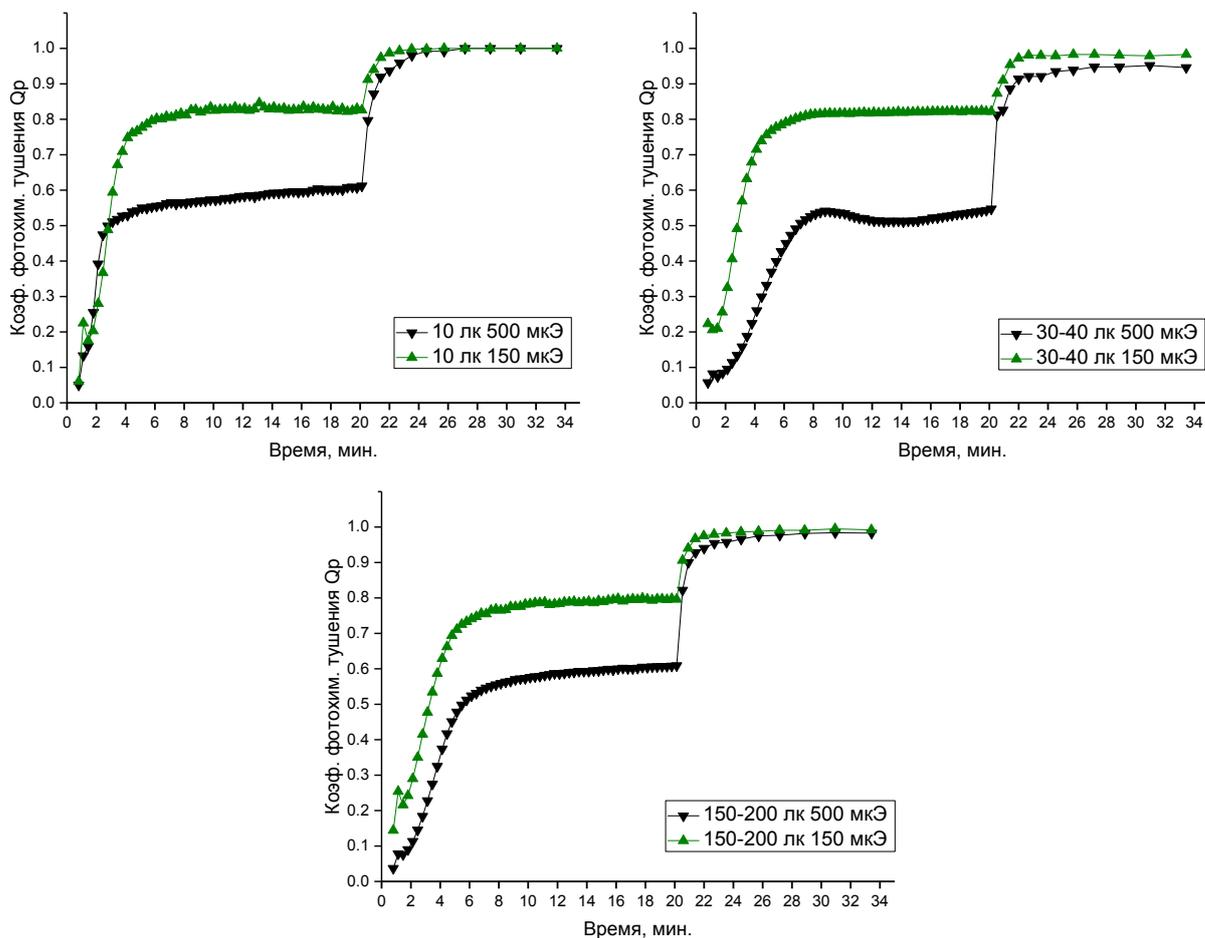


Рис. 16. Коэффициенты фотохимического тушения флуоресценции листьев бобов при разной интенсивности действующего света.

Увеличение стационарного значения коэффициента  $Q_p$  при возрастании интенсивности действующего света свидетельствует о повышении доли энергии возбуждения, диссипируемой в виде тепла.

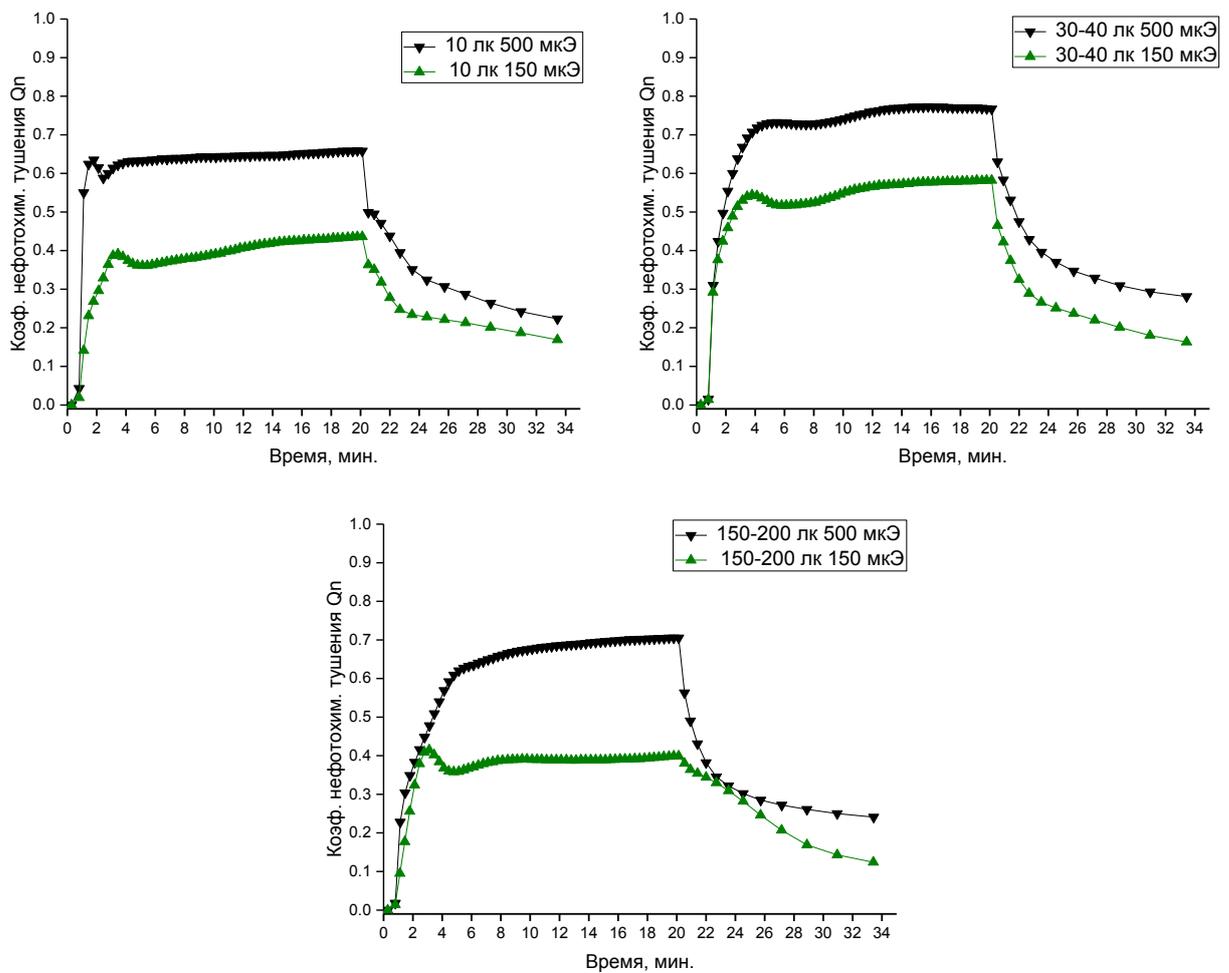


Рис. 17. Коэффициенты нефотохимического тушения флуоресценции листьев бобов при разной интенсивности действующего света.

Низкие стационарные значения  $Q_p$  при высоком уровне освещенности указывают на высокую степень восстановленности переносчиков электронов между фотосистемами.

| Освещённость при выращивании | $C_{a+b}$ , мг/г | $F_0$ , отн. ед. | $F_m$ , отн. ед. | $F_v/F_m$ , отн. ед. |
|------------------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------|
| 5-10 лк                      | $0.45 \pm 0.02$  | $0.46 \pm 0.02$  | $1.81 \pm 0.02$  | $0.63 \pm 0.08$      |
| 30-40 лк                     | $0.99 \pm 0.08$  | $0.61 \pm 0.04$  | $2.35 \pm 0.04$  | $0.75 \pm 0.06$      |
| 150-200 лк                   | $1.67 \pm 0.10$  | $0.65 \pm 0.01$  | $3.19 \pm 0.09$  | $0.78 \pm 0.03$      |

В таблице приведены характерные параметры индукции флуоресценции для разных условий выращивания и интенсивности актиничного света. Существенно, что значения  $F_v/F_m$  заметно изменяются только при существенном снижении содержания хлорофилла в листе. Это свидетельствует об эффективной работе - сохранении высокой фотохимической активности ФС2.

## 5. Выводы

1. Показана высокая положительная корреляция между параметром  $F740/F685$  и содержанием хлорофилла в листьях бобов, выращенных при пониженной освещенности, и листьях дуба в ходе осенней деградации хлорофилла.
2. Установлено, что значения параметра  $Fv/Fm$  листьев растений остаются высокими вплоть до 3-5-кратного снижения содержания хлорофилла, что свидетельствует о сохранении высокой эффективности работы фотосистемы 2.
3. Увеличение стационарного значения коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции  $Qn$  при возрастании интенсивности действующего света свидетельствует о повышении доли энергии возбуждения, диссипируемой в виде тепла. Низкие стационарные значения коэффициента фотохимического тушения флуоресценции  $Qp$  при высокой интенсивности действующего света указывают на увеличение степени восстановленности переносчиков электронов между фотосистемами.

## 6. Литература

1. Алехина Н. Д., Балнокин Ю. В., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т.В., Мейчик Н.Р., Носов А.М., Полесская О.Г., Харитонашвили Е.В., Чуб В.В. Физиология растений М.: Академия. 2005. 640 с.
2. Асланиди К.Б., А.А. Шалапенко, Карнаухов В.Н., Берестовская Н.Г., Шавкин В.И. Метод определения функционального состояния растений по спектрам флуоресценции хлорофилла. // Пушино 1988
3. Тихонов А.Н., Трансформация энергии в хлоропластах – энергопреобразующих органеллах растительной клетки // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 4. С. 24–32.
4. Тихонов А.Н., Регуляция световых и темновых стадий фотосинтеза // Соросовский Образовательный Журнал. 1999. № 11. С. 8–15.
5. Kate Maxwell, Giles N. Johnson, Chlorophyll fluorescence – a practical guide. // Journal of Experimental Botany , Vol. 51, No.345, pp. 659 – 668, 2000
6. G.H. Krause, Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Bioi. 1991.42:313-49
7. Карапетян Н.В., Бухов Н.Г. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений // Физиология растений. 1986. Т. 33. С. 1013-1026.
8. Малый практикум по физиологии растений / Под ред. Гусева М.В. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1982. 192 с.