

## ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ

УДК 577.346

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ И АНАЛИЗ ПРИЧИН КОЛЕБАНИЙ  
ЗАМЕДЛЕННОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ЛИСТЬЕВ ВЫСШИХ  
РАСТЕНИЙ

Т. А. Карелина, А. А. Белов, А. К. Кукушкин

(кафедра биофизики)

E-mail: karelinat@mail.ru

**При помощи созданной ранее модели, включающей первичные процессы и цикл Кальвина, впервые получены колебания замедленной люминесценции и выдвинуты предположения о механизме их возникновения.**

В 1990 г. был экспериментально обнаружен колебательный режим замедленной люминесценции. Колебательная кинетика в процессе фотосинтеза представляет большой интерес для исследователей, так как является ярким проявлением регуляторных связей в системе.

В зависимости от условий эксперимента можно наблюдать различное поведение переменных, описывающих процесс фотосинтеза [1, 2], в том числе затухающие колебания интенсивности флуоресценции и концентраций метаболитов цикла Кальвина, возникающие при изменении внешних условий (интенсивности света, газового состава среды, концентрации фосфата). Как отмечено в работе [1], при такой немонотонной кинетике наиболее ярко проявляются регуляторные процессы, которые обеспечивают оптимальное функционирование сложной системы реакций. Математическая модель позволяет вычлнить реакции, наиболее существенные для возникновения колебаний. В связи с этим становится актуальным количественное изучение регуляторных связей и создание моделей, описывающих систему в режиме затухающих колебаний. Одним из способов экспериментального исследования регуляторных связей фотосинтетических систем является замедленная люминесценция. Замедленная люминесценция возникает в реакционном центре фотосистемы 2 (ФС2) в ходе обратных реакций электронного транспорта, приводящих к образованию возбужденной специальной пары реакционного центра ФС2 ( $P680^*$ ). Поскольку в рекомбинации зарядов могут участвовать различные электронные переносчики, замедленная люминесценция после вспышки света состоит из многих компонент с характерными временами от сотен наносекунд до нескольких секунд. Для изучения электронного транспорта между фотосистемами наиболее часто используется замедленная люминесценция в миллисекундном диапазоне, связанная, по-видимому, с рекомбинацией зарядов в состояниях  $Z + P680PheoQ_{A^-}$ ,  $S + ZP680PheoQ_A$  (восстановлен хинон  $Q_A$ ) и  $Z + P680PheoQ_AQ_B^-$

(восстановлен  $Q_B$ ) [3]. Это обусловлено простотой ее регистрации по сравнению с другими компонентами. Кроме того,  $Q_B$  является наиболее медленным звеном электрон-транспортной цепи. Поэтому можно ожидать, что рекомбинация с участием  $Q_{A^-}$  и  $Q_B^-$  является компонентой, весьма чувствительной к состоянию электрон-транспортной цепи. Замедленная люминесценция также более чувствительна к изменениям в скорости функционирования цикла Кальвина, чем быстрая люминесценция [4]. Замедленная люминесценция была обнаружена в 1951 г. Б. Стрелером и У. А. Арнольдом [5]. Впервые количественное описание связи между концентрацией восстановленных и окисленных переносчиков ФС2 и интенсивностью замедленной люминесценции дал Е. М. Сорокин в работе [6].

В настоящее время существуют математические модели фотосинтеза, которые удовлетворительно описывают стационарные режимы и монотонные кинетики. Но для описания колебаний с их помощью приходится делать некоторые, не вполне обоснованные допущения.

Рассмотрим некоторые из этих моделей.

В модели Лайска с соавторами [7] для объяснения колебаний предложена идея, основанная на круговороте фосфора при фотосинтезе. Гомеостаз фосфатов и сахарофосфатов поддерживается при помощи регуляции активности цитозольной ФБФазы и АДФ-глюкозопирофосфорилазы в хлоропласте. Таким образом, колебания получены лишь в предположении, что регуляторы работают через лаг-фазу продолжительностью 10–20 с. Для этого в уравнения была искусственно введена задержка в виде запаздывающего аргумента, физический смысл которого не определен. Следующий, упрощенный вариант модели [8], предложенный Хортоном и Николсоном, содержал аналогичную задержку в активации синтеза сахарозы триозофосфатами и инактивацию под действием неорганического фосфата. Без этого не вполне обоснованного предположения колебания в модели получить не удалось. Кроме того, как ука-

зано самими авторами, изолированные хлоропласты также могут демонстрировать колебания [9], и это означает, что источник колебаний нужно искать во внутренних реакциях хлоропластов. Существенной особенностью вышеперечисленных моделей является учет регуляции активности ферментов цикла Кальвина различными его интермедиатами. В большинстве из них недостаточное внимание уделено взаимодействию световых и темновых процессов фотосинтеза, которое представляется нам существенным для возникновения затухающих колебаний.

В работах Гирша [10] развит другой подход к исследованию колебаний. Автор подхода исследовал упрощенные модели и аналитически вычислял значения параметров, при которых появляются колебания. В одной из работ рассмотрена модель, состоящая из двух уравнений, так называемый «базовый осциллятор» (модель цикла Кальвина, учитывающая существование двух киназных реакций, конкурирующих за АТФ). Однако полученные колебания затухают намного быстрее (на два порядка), чем наблюдаемые экспериментально [1]. Возможно, это связано с тем, что не учтено взаимодействие световых и темновых реакций. В другой модели (Роверс, Гирш, [11]), состоящей из трех уравнений и учитывающей электронный транспорт через НАДФН, авторы добились большего соответствия с экспериментом. Однако флуоресценция и выделение  $\text{CO}_2$  (как правило, в экспериментах наблюдаются именно они) не были включены в уравнения в явном виде, и судить об этом соответствии достаточно сложно.

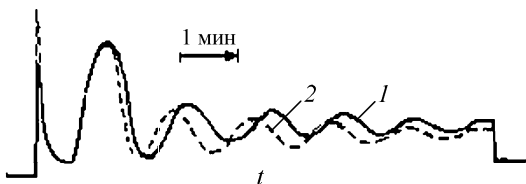


Рис. 1. Кинетика изменений интенсивности десятимиллисекундной компоненты послесвечения в листьях пшеницы. Концентрация  $\text{CO}_2$  в атмосфере листа: 1, 0.03%; 2, 3%

В 1990 г. обнаружены колебания замедленной люминесценции [12] (рис. 1). Ни одна из вышеперечисленных моделей не давала возможности исследовать замедленную люминесценцию, поскольку она не выражалась в явном виде через переменные модели. Ранее было показано, что при некоторых условиях изменение во времени замедленной люминесценции может отличаться от быстрой флуоресценции [13]. В связи с этим интересно рассмотреть модель фотосинтеза, которая позволяет получить не только колебания флуоресценции, но и колебания замедленной люминесценции в миллисекундном диапазоне.

На кафедре биофизики была разработана модель, учитывающая как световые (поглощение кванта света пигментами, электронный транспорт), так и темновые процессы (поглощение  $\text{CO}_2$  в цикле Кальвина). Модель представляет собой систему из 15 уравнений [14] (рис. 2), которая решается численным методом при помощи программы, написанной на языке Delphi.

Для исследования замедленной люминесценции в этой программе предусмотрено периодическое включение света, т. е. интервалы освещенности чередуются с интервалами темноты (около 10 мс). При определенных значениях параметров в системе существуют колебания переменных, похожие на наблюдаемые экспериментально (рис. 3).

Наиболее существенными для получения такого режима оказались такие параметры, как скорость расходования АТФ в реакциях фосфорилирования  $P_{11}$  и  $P_{13}$ , скорости линейного и циклического электронного транспорта  $P$  и  $P_3$ , скорость поглощения  $\text{CO}_2$ , интенсивность света, константа сопряжения фосфорилирования и электронного транспорта  $P_{F1}$  (см. рис. 2), причем характер поведения может меняться при изменении даже одного параметра. Например, при увеличении параметра  $P_{F1}$  система переходит в режим, при котором колебания практически исчезают (рис. 4). Используемое в модели значение  $P_{\text{CO}_2} \cdot P_{12}$  равно 0.0005, что соответствует

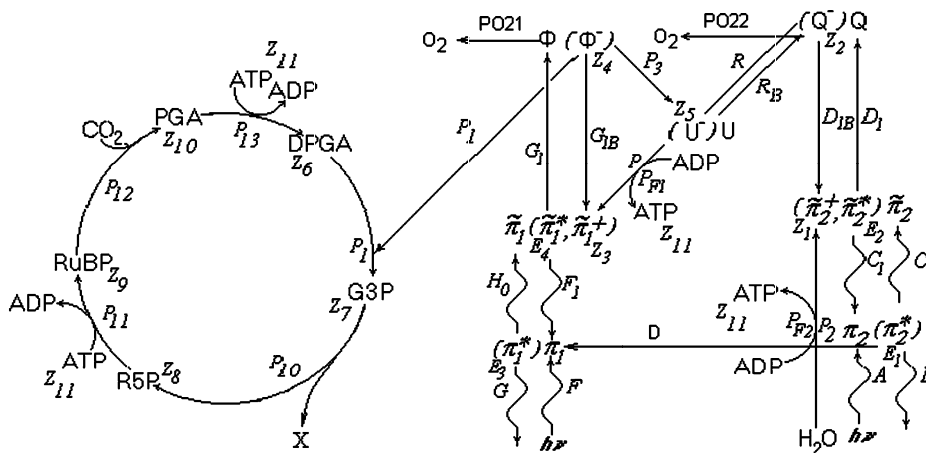


Рис. 2. Схема реакций. Здесь  $\pi_1, \pi_2$  — пигменты антенны,  $\tilde{\pi}_1, \tilde{\pi}_2$  — реакционные центры ФС1 и ФС2, Q, U и  $\Phi$  — электронные переносчики, DPGA — дифосфоглицерат, PGA — фосфоглицерат, R5P — рибулозо-5-фосфат, RuBP — рибулозобисфосфат, G3P — глицеральдегид-3-фосфат, АТФ — АТФ

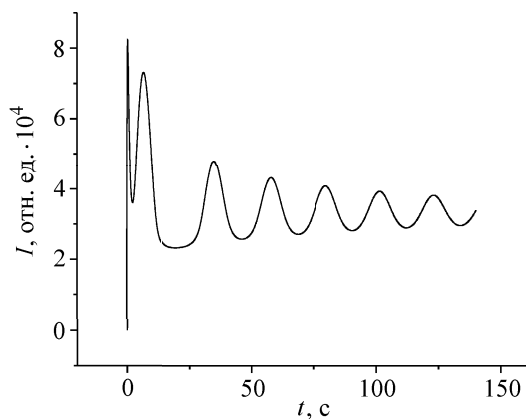


Рис. 3. Модельный колебательный режим замедленной люминесценции

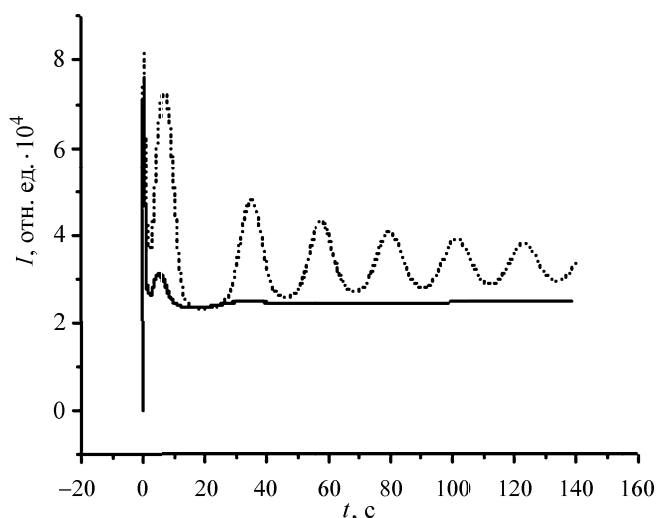


Рис. 4. Изменение кинетики при разных значениях параметра  $P_{F1}$ : сплошная линия —  $P_{F1} = 0.019$ ; пунктирная —  $P_{F1} = 0.009$

поглощению пяти молекул  $CO_2$  на молекулу реакционного центра в 10 с, т.е. приблизительно соответствует нормальным условиям. Интенсивность света такова, что одна молекула хлорофилла в ФС2 поглощает 1 квант в 10 с, что также приблизительно соответствует нормальному освещению.

При включении света в течение первых 10 с происходят довольно сложные переходные процессы, характер которых зависит от начальных условий. Анализ временных зависимостей (рис. 5) показывает, что после включения света прежде всего начинает активно работать нециклический электронный транспорт и накапливается АТФ и НАДФН. Из-за несоответствия соотношения получаемых концентраций НАДФН и АТФ оптимальному соотношению цикл Кальвина работает медленно, что приводит к возрастанию концентрации НАДФН. При этом начинает работать циклический транспорт. В результате повышается концентрация АТФ и накапливается метаболит цикла Кальвина дифосфоглицериновая кислота, которая вступает в реакцию с НАДФН, окисляя его. Это приводит к уменьшению циклического потока и, следовательно, снижает скорость синтеза АТФ. Цикл Кальвина начинает работать

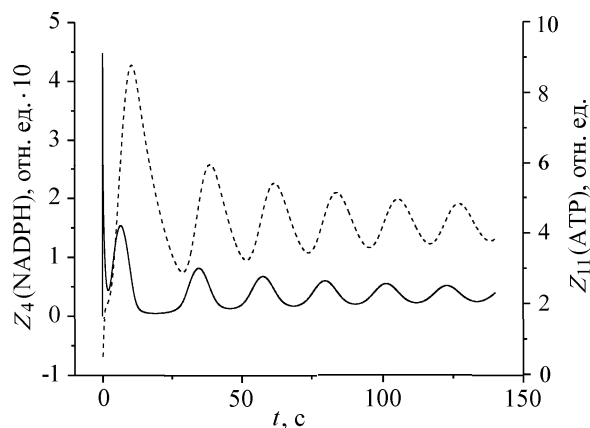


Рис. 5. Изменение во времени концентраций НАДФН и АТФ

медленнее, и накапливается большое количество восстановленных акцепторов фотосистемы 1 (ФС1), а это приводит к увеличению флуоресценции. Поэтому вслед за минимумом АТФ (приблизительно через 5–10 с) следует максимум величины  $Z_4$ , пропорциональной концентрации НАДФН, и величины  $E_1$ , пропорциональной концентрации молекул хлорофилла ФС2 в возбужденном состоянии и соответствующей интенсивности замедленной люминесценции.

Таким образом, колебания могут быть обусловлены нарушением баланса НАДФН/АТФ. Регуляция этого соотношения обеспечивается связью между количеством восстановленных акцепторов ФС1 и синтезом АТФ. Эта связь осуществляется при помощи циклического потока, сопряженного с синтезом АТФ при помощи АТФ-синтазы. Параметр  $P_{F1}$  как раз отвечает за эффективность работы этой системы, поэтому его уменьшение приводит к таким изменениям поведения системы (рис. 4).

В отличие от результатов, полученных ранее при помощи этой модели, в этой работе удалось получить характерные времена, более близкие к наблюдаемым экспериментально. Это объясняется тем, что в ранних работах (см. [14]) с целью ускорения компьютерных вычислений значения некоторых констант были завышены на 1–2 порядка по сравнению со значениями, оцененными на основе экспериментальных данных. В данной работе константы выбирались исходя из следующих соображений. Константы скоростей первичных процессов принимались равными приблизительно  $1/t_i$ , где  $t_i$  — характерные времена этих процессов.

Константы скоростей в цикле Кальвина для каждой конкретной реакции измерить довольно трудно. Для их оценки применяют косвенные методы, основанные на значениях констант Михаэлиса для каждого из этапов ферментативных реакций цикла Кальвина и величинах свободной энергии. Нами был использован другой подход: значения констант были оценены на основе данных по поглощению  $CO_2$  и расходу НАДФН. Кроме того, в настоящей работе

некоторые параметры были специально подобраны для наилучшего сходства с экспериментом.

В заключение отметим, что для получения колебательного режима мы не использовали никаких дополнительных предположений, не содержащихся в исходной системе уравнений, описывающих предложенную схему реакций (рис. 2). Дальнейший анализ этой системы позволит лучше понять пути регуляции фотосинтеза.

Благодарим А. А. Долгополову за ценные замечания и помощь, Д. З. Бадретдинова, Р. В. Белоусова и К. В. Жуденкова за консультации и помощь в работе с программой.

#### Литература

1. Walker D.A. // Photosynth. Res. 1992. **34**. P. 387.
2. Furbank R.T., Foyer C.H. // Arch. Biochem. Biophys. 1986. **246**, N 1. P. 240.
3. Рубин А.Б., Кононенко А.А., Пащенко В.З. и др. // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Биофизика. 1987. С. 1.
4. Кузнецова С.А., Кукушкин А.К. // Биофизика. 2000. **45**, № 4. С. 760.
5. Strehler B., Arnold W.A. // J. Gen. Physiol. 1951. **34**. P. 809.
6. Sorokin E.M. // Photosynthetica. 1978. **12**, N 3. P. 250.
7. Лайск А.Х. // Кинетика фотосинтеза С<sub>3</sub>-растений. М., 1991.
8. Horton P., Nicholson H. // Photosynth. Res. 1987. **12**. P. 129.
9. Veljovic-Jovanovic S., Cerovic Z.G. // Planta. 1991. **185**. P. 397.
10. Giersch C. // Arch. Biochem. Biophys. 1986. **245**, N 1. P. 263.
11. Rovers W., Giersch C. // Biosystems. 1995. **35**, N 1. P. 63.
12. Дамдинсүрэн С. // Биофизика. 1990. **35**, N 4. С. 687.
13. Кузнецова Е.А., Кукушкин А.К. // Тез. докл. 6-й Всесоюз. конф. по фотоэнергетике растений. Львов, 1980. С. 27.
14. Караваев В.А., Кукушкин А.К. // Биофизика. 1993. **38**, № 6. С. 958.

Поступила в редакцию  
07.05.04