

<https://doi.org/10.3176/phys.math.1979.1.15>

УДК 535.37

Р. АВАРМАА, С. КОЧУБЕЙ, Р. ТАМКИВИ

ВРЕМЕНА ЗАТУХАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ФОТОСИСТЕМАХ 1 И 2 ХЛОРОПЛАСТОВ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 4,2 К

R. AVARMAA, S. KOTSUBEI, R. TAMKIVI. KLOROFÜLLI FLUORESTSENTSI KUSTOMISAJAD
KLOROPLASTIDE FOTOSÜSTEEMIDES 1 JA 2 TEMPERATUURIL 4,2 K

R. AVARMAA, S. KOCHUBEY, R. TAMKIVI. FLUORESCENCE DECAY TIMES OF CHLORO-
PHYLL IN PHOTOSYSTEMS 1 AND 2 OF CHLOROPLASTS AT $T=4,2$ K

(Представлена К. К. Ребане)

1. Известно, что время затухания флуоресценции τ_f хлорофилла (Хл) *a* в растворах составляет 6—8 нсек (см., напр., [1]) и не меняется существенно при понижении температуры до 4,2 К [2].

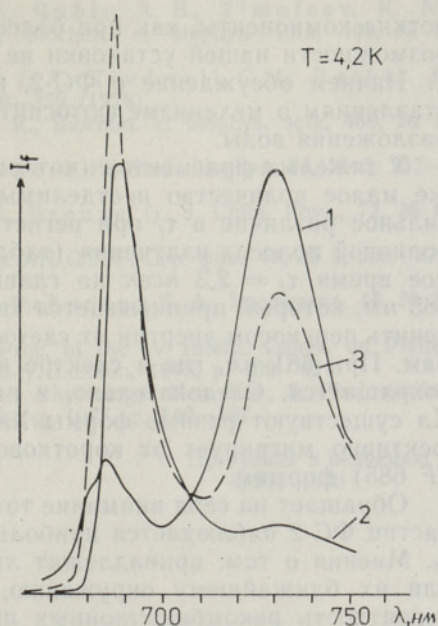
Для Хл, связанного с фотосинтетическими мембранами, τ_f при комнатной температуре оказывается намного короче и лежит в субнаносекундной области, что обусловлено эффективной утилизацией энергии молекулярных возбуждений пигмента в первичных фотохимических реакциях фотосинтеза. Поскольку флуоресценция и фотохимические реакции являются конкурирующими процессами, то квантовый выход ϕ и время затухания τ_f флуоресценции служат важными источниками информации об эффективности фотохимических реакций в разных пигментных системах. В настоящее время проведен ряд измерений τ_f Хл *a in vivo* методом пикосекундной τ -метрии [3, 4]. Изучение температурных зависимостей τ_f [5] и ϕ [6] хлоропластов и субхлоропластных частиц обнаружило увеличение τ_f и ϕ при понижении температуры до 77 К, что указывает на уменьшение скоростей первичных фотохимических реакций.

Чтобы исключить возможное влияние процессов, требующих тепловой активации, в настоящей работе измерены τ_f Хл *a in vivo* при температуре 4,2 К. * Успешное применение флуорометрического метода для наблюдения за переносом энергии в пределах основной полосы флуоресценции Хл *a in vitro* [8] стимулировало интерес к изучению этого аспекта также на хлоропластных препаратах.

2. Используемая экспериментальная установка [2] позволяла измерять кривые затухания флуоресценции при регистрации в узких спектральных интервалах (~ 1 нм), выделяемых монохроматором ДФС-24. Флуоресценция возбуждалась искрой в полосе Соре.

* Насколько нам известно — впервые; в [7] получены τ_f для хлоропластов при $T = 23$ К.

Спектры флуоресценции частиц ФС-1 (1), ФС-2 (2) и хлоропластов (3) при $T = 4,2$ К. Возбуждение линией 633 нм He—Ne-лазера. Кривые приведены без поправок на чувствительность регистрирующей системы ДФС-24 и ФЭУ-79.



Хлоропласты выделяли из проростков гороха; субхлоропластные фрагменты (обогащенные фотосистемами ФС-1 или ФС-2) получали по методике, описанной в [9]. Для измерений использовали полусухие пленки, структура низкотемпературных спектров которых идентична структуре спектров замороженных суспензий в буферных смесях. Функциональная активность пигментов в пленках сохраняется. Были проведены также некоторые контрольные измерения τ_f на суспензиях.

3. Спектры флуоресценции хлоропластов и их фрагментов при 4,2 К показаны на рисунке. Измерения τ_f проводили около максимумов структурных компонент как коротковолновой, так и длинноволновой полос (результаты см. в таблице). Все кривые затухания аппроксимировались одной экспонентой, поправки на конечную длительность возбуждающих импульсов учитывались так же, как в [2, 8]. Точность определения τ_f составляет $\pm 0,1$ нсек, за исключением самых коротких, для которых ошибка указана в таблице.

Поскольку исследовались образцы с довольно большой концентрацией Хл (оптическая плотность в красном максимуме поглощения $D \approx 1$), в случае тяжелых фрагментов было проведено сравнение с разбавленным объектом. Как видно из таблицы, в более плотных образцах τ_f слегка увеличены, что объясняется влиянием реабсорбции (ср. [8]).

При 4,2 К на всех длинах волн регистрации обнаружены τ_f наносекундной длительности. Не исключено, что присутствовали и более ко-

Времена затухания флуоресценции хлоропластов и их фрагментов при 4,2 К, нсек

λ_f , нм	Хлоропласты	Легкие фрагменты, ФС-1	Тяжелые фрагменты, ФС-2	ФС-2, разбавленный образец
681	$1,0 \pm 0,3$	2,8	$1,1 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,3$
685	—	—	2,3	2,2
687	2,8	3,2	—	—
696	3,9	3,4	4,4	3,9
722	—	—	3,9	—
724	—	2,8	—	—
730	3,1	3,1	—	—
732	—	—	4,0	3,4
734	—	3,2	—	—
739	—	3,3	—	—
745	—	3,2	4,1	—
750	—	3,1	—	—

роткие компоненты, как при более высоких температурах [5, 10], однако возможности нашей установки не позволяли установить их наличие.

4. Начнем обсуждение с ФС-2, которая, согласно современным представлениям о механизме фотосинтеза, совершает цикл фотохимического разложения воды.

У тяжелых фрагментов (которые обогащены ФС-2, но содержат также малое количество неотделимых от них частиц ФС-1) наблюдается сильное различие в τ_f при регистрации на коротковолновой и длинноволновой полосах излучения (таблица и рисунок). Сравнительно короткое время $\tau_f = 2,3$ нсек на главном максимуме флуоресценции ФС-2 685 нм, который приписывается светособирающему Хл [11], можно объяснить переносом энергии от светособирающего Хл к реакционным центрам. При 681 нм, где в спектре видна слабая ступенька, τ_f еще более сокращается. Следовательно, в пигментной системе светособирающего Хл существуют разные формы Хл *a*, причем энергия возбуждения эффективно мигрирует от коротковолновых (*F* 681) к длинноволновым (*F* 685) формам.

Обращает на себя внимание тот факт, что в области 696 нм в спектре частиц ФС-2 наблюдается наибольшее из зарегистрированных значений τ_f . Мнения о том, принадлежит ли это свечение реакционным центрам или их ближайшему окружению, расходятся, но, учитывая большую вероятность рекомбинационных процессов при столь низкой температуре, можно предполагать, что указанное время затухания принадлежит рекомбинационному свечению в реакционных центрах ФС-2.

В пределах основной полосы спектра излучения легких фрагментов (являющихся в основном носителями ФС-1) с максимумом около 735 нм τ_f практически не зависит от длины волны регистрации λ_f и составляет в среднем 3,2 нсек. Эта величина близка к величине одной из компонент для частиц ФС-1 при 23 К (2,8 нсек [7]) и согласуется с $\tau_f = 0,1$ и 0,6 нсек соответственно при 280 и 90 К для длинноволновой полосы хлоропластов [5], если учитывать значительное увеличение выхода флуоресценции ФС-1 с понижением температуры [6]. Относительное постоянство τ_f в пределах длинноволновой полосы ФС-1 указывает на то, что хотя эта полоса, по-видимому, неоднородна, между различными спектральными компонентами нет заметной индуктивно-резонансной передачи энергии, по крайней мере при низкой температуре. В [8] было показано, что такая миграция непременно приводит к зависимости τ_f от λ_f .

Значения τ_f в коротковолновой полосе спектра флуоресценции легких фрагментов близки к таковым для полосы 735 нм и значительно превышают τ_f для ФС-2 и хлоропластов при той же длине волны. Поэтому слабую коротковолновую полосу легких фрагментов нельзя полностью приписывать примеси светособирающего Хл ФС-2, присутствие которой возможно из-за неполного разделения фрагментов. По-видимому, увеличенные τ_f для легких фрагментов при 681 и 687 нм свидетельствуют о наличии собственной светособирающей системы пигментов у ФС-1.

Итак, измерения τ_f Хл *a in vivo* при температуре жидкого гелия позволили изучить затухание возбужденных состояний в условиях, когда процессы дезактивации, требующие теплового возбуждения, подавлены.

Авторы благодарны К. Ребане за поддержку и интерес к работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Goedheer, J. C., Annu. Rev. Plant Physiol., 23, 87—112 (1972).
2. Avarmaa, R., Soovik, T., Tamkivi, R., Tõnissoo, V., Stud. biophys., 65, № 3, 213—218 (1977).

3. Paschenko, V. Z., Protasov, S. P., Rubin, A. B., Timofeev, K. N., Zamazova, L. M., Rubin, L. B., *Biochim. et biophys. acta*, **408**, № 1, 143—153 (1975).
4. Harris, L., Porter, G., Synowiec, J. A., Tredwell, C. J., Barber, J., *Biochim. et biophys. acta*, **449**, № 2, 329—339 (1976).
5. Yu, W., Pellegrino, F., Alfano, R. R., *Biochim. et biophys. acta*, **460**, № 1, 171—181 (1977).
6. Кочубей С. М., Самохвал Е. Г., Мюллер И., *Stud. biophys.*, **54**, № 3, 217—224 (1976).
7. Hervo, G., Paillotin, G., Thiery, J., Breuze, G., *J. Chim. Phys.*, **72**, № 6, 761—766 (1975).
8. Тамкиви Р. П., Авармаа Р. А., *Изв. АН СССР, Сер. физ.*, **42**, № 3, 568—572 (1978).
9. Островская Л. К., Кочубей С. М., Рейнгард Т. А., *Биофизика*, **14**, № 3, 265—275 (1969).
10. Sauer, K., Brewington, G. T., In: *Proc. of the IV Intern. Congr. on Photosynthesis*, Ed. by the Biochemical Society, London, 1978, p. 409—421.
11. Butler, W. L., In: *Encyclopedia of Plant Physiology, New Ser.*, **5**, Photosynthesis I, Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg, 1977, p. 149—167.

Институт физики
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
4/VII 1978

Институт физиологии растений
Академии наук Украинской ССР