

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ХЛОРОПЛАСТАХ: ИНДУКЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ РОДА *Cucumis*

© 2025 г. Н.А. Маринин\*, И.С. Сусличенко\*, А.Н. Тихонов\*, #

\*Физический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,  
Ленинские горы, 1/2, Москва, 119991, Россия

#E-mail: an\_tikhonov@mail.ru

Поступила в редакцию 05.07.2024 г.

После доработки 16.07.2024 г.

Принята к публикации 17.07.2024 г.

Описаны результаты исследования электронного транспорта в хлоропластах *in situ* (листья) двух видов растений рода *Cucumis* – теневыносливого вида *C. sativus* (огурец) и светолюбивого вида *C. melo* (дыня), выращенных в условиях сильного (800–1000 мкмоль фотонов · м<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup>) и умеренного освещения (50–125 мкмоль фотонов · м<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup>). За процессами электронного транспорта следили по сигналу электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) от P<sub>700</sub><sup>+</sup> (окисленный реакционный центр фотосистемы 1), по поглощению света (разностный сигнал A<sub>870–830</sub> от P<sub>700</sub><sup>+</sup>) и по выходу флуоресценции хлорофилла *a*. Показано, что растения, выросшие при высокой интенсивности света, характеризуются более быстрыми изменениями редокс-состояния P<sub>700</sub> по сравнению с растениями, выращенными при низкой (умеренной) интенсивности света. Полученные данные обсуждаются в контексте механизмов регуляции электронного транспорта в хлоропластах теневыносливых и светолюбивых видов растений рода *Cucumis*.

**Ключевые слова:** хлороплазты, фотосинтетический транспорт электронов, электронный парамагнитный резонанс, оптическая спектроскопия, акклиматизация к сильному и умеренному свету.

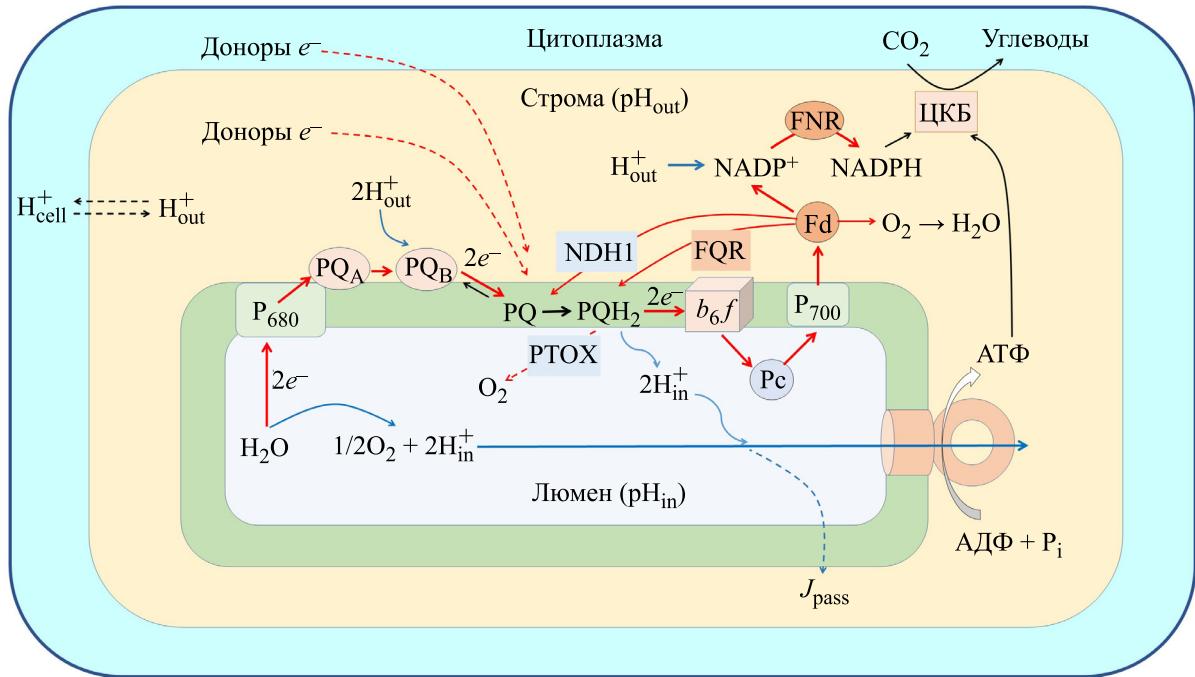
**DOI:** 10.31857/S0006302925010074, **EDN:** LXLIGZ

Фотосинтезирующие организмы функционируют в изменяющихся условиях окружающей среды. Выяснение физико-химических механизмов регуляции световых стадий фотосинтеза, обеспечивающих оптимальное функционирование (растений, – актуальная задача биофизики и биохимии. Фотосинтетический аппарат (ФСА) оксигенных фотосинтетических организмов (растения, водоросли и цианобактерии [1–3]) содержит пигмент-белковые комплексы фотосистемы 1 (ФС I) и фотосистемы 2 (ФС II). Пигменты светособирающих антенн ФС I и ФС II поглощают свет; энергия нейтрального возбуждения этих пигментов мигрирует к реакционным центрам, в которых происходит разделение зарядов.

**Сокращения:** ФСА – фотосинтетический аппарат, ФС I – фотосистема I, ФС II – фотосистема II, ЦЭТ – цепь электронного транспорта, ЦКБ – цикл Кальвина–Бенсона, НЭТ – нециклический электронный транспорт, РQ – пластохинон, РQH<sub>2</sub> – пластохинол, Рс – пластоцианин, Fd – ферредоксин, ЦЭТ – циклический электронный транспорт, Хл – хлорофилл, ЭПР – электронный парамагнитный резонанс, ДКС – дальний красный свет, БС – белый свет, КС – красный свет.

В результате совместной работы ФС I и ФС II электроны переносятся от молекул воды, разлагаемых в ФС II (2H<sub>2</sub>O → O<sub>2</sub> + 4e<sup>-</sup> + 4H<sup>+</sup>), к молекулам NADP<sup>+</sup> (ФС I → NADP<sup>+</sup>), восстанавливаемым до NADPH (NADP<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup> + H<sup>+</sup> → NADPH). Работа цепи электронного транспорта (ЦЭТ) сопряжена с генерацией *транс*-тилакоидной разности электрохимических потенциалов ионов водорода (Δμ<sub>H+</sub>). За счет энергии Δμ<sub>H+</sub> в АТФ-синтазных комплексах (CF<sub>0</sub>–CF<sub>1</sub>) образуются молекулы АТФ из АДФ и неорганического фосфата (ортосфат, Р<sub>1</sub>). В строме хлоропластов (пространство между оболочкой хлоропласта и тилакоидами) находятся ферменты цикла Кальвина–Бенсона (ЦКБ), катализирующие восстановление CO<sub>2</sub> и образование углеводов за счет энергии молекул NADPH и АТФ.

Приведенная на рис. 1 схема иллюстрирует разнообразие путей переноса электронов в хлоропластах растений. Цепь нециклического электронного транспорта (НЭТ) обеспечивает перенос электронов от ФС II к ФС I, и далее от ФС I



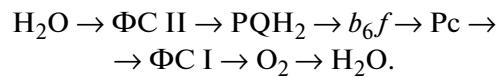
**Рис. 1.** Схема, иллюстрирующая электронные и протонные потоки в хлоропластах. Обозначения: ФС I и ФС II – фотосистема I и фотосистема II;  $b_6f$  – цитохромный комплекс; Fd – ферредоксин; FNR – ферредоксин-НАДР-редуктаза; FQR и NDH1 – белковые комплексы, участвующие в циклическом транспорте электронов вокруг ФС I; Рс – пластицианин; PQ и  $PQH_2$  – пластихионин и пластихионол;  $PQ_A$  и  $PQ_B$  – молекулы первичного и вторичного пластихионина, взаимодействующие с ФС II; РТОХ – терминальная оксидаза; ЦКБ – цикл Кальвина–Бенсона. Пунктирными стрелками показаны потоки электронов от внешних доноров к фотосинтетической цепи электронного переноса на уровне пластихионинового пула ( $PQ/PQH_2$ ) и отток электронов от  $PQH_2$  к  $O_2$ , катализируемый терминальной оксидазой РТОХ.

к  $\text{NADP}^+$ . Пластохинон (PQ), который восстанавливается до пластохинола ( $\text{PQH}_2$ ) и протонируется за счет ионов водорода, поступающих из стромы ( $\text{PQ} + 2\text{e}^- + 2\text{H}_{\text{out}}^+ \rightarrow \text{PQH}_2$ ), служит мобильным переносчиком электронов от ФС II к цитохромному комплексу  $b_6f$ . От  $b_6f$ -комплекса электроны переносятся с помощью пластицианина (Pc) к  $\text{P}_700^+$  – окисленным фотопротеинным центрам ФС I.

На уровне ферредоксина ( $Fd$ ) – мобильного белкового переносчика электрона, восстановляемого от  $\text{FC I}$ , происходит разветвление электронных потоков. От восстановленного ферредоксина ( $Fd^-$ ) электроны переносятся на молекулу  $\text{NADP}^+$  через ферредоксин- $\text{NADP}$ -редуктазу; дважды восстановленная молекула  $\text{NADP}^-$  протонируется за счет ионов водорода, поступающих из стромы ( $\text{NADP}^- + \text{H}_{\text{out}}^+ \rightarrow \text{NADPH}$ ). Светоиндуцированное защелачивание стромы ( $\text{pH}_{\text{out}} \uparrow$ ) способствует активации ферментов ЦКБ и ускорению потребления  $\text{NADPH}$  и  $\text{ATF}$  [1].

Альтернативные пути оттока электронов от ФС I связаны с (1) циклическим электронным

транспортом (ЦЭТ) вокруг ФС I, и (2) «псевдоциклическим» транспортом электронов, происходящим с участием молекулярного кислорода ( $O_2$ ) в качестве акцептора электрона в ФС I (так называемый цикл «вода–вода»). При функционировании ЦЭТ электроны поступают в пластохиноновый пул ( $PQ/PQH_2$ ) от  $Fd^-$  по двум возможным путям: (а) через ферредоксин-хинон редуктазу, содержащую связанные с комплексом  $b_6/f$  белки PGR5 и PGRL1, или (б) через комплекс NDH-1 (аналог митохондриального комплекса I [4, 5]). В цикле «вода–вода» молекула воды, разлагаемая в ФС II, – исходный источник электронов; молекула воды, образующаяся на акцепторной стороне ФС I после переноса электронов на молекулярный кислород, – конечный продукт в цепи псевдоциклического электронного переноса [6]:



Циклический и псевдоциклический перенос электронов не связаны с потреблением NADPH в ЦКБ; при этом, однако, в люмене переносятся

ионы водорода, что способствует работе АТФ-синтазы и образованию АТФ [7].

Свойства ФСА зависят от вида растений и условий их произрастания. Акклимация<sup>1</sup> растений к определенным условиям освещения (интенсивность и спектральный состав света) вызывает перестраивание тилакоидных мембран и оптимизацию электронного транспорта. Акклимация позволяет повышать светособор при слабой освещенности и защищать растения от стресса при избытке света [8–12]. Оптимизация работы ФСА обеспечивается за счет разных механизмов регуляции фотосинтетических процессов. *Быстрые* (секунды–минуты) механизмы регуляции связаны с активацией белков ФСА, с перераспределением энергии поглощаемого света между двумя фотосистемами (ФС I и ФС II) [11], а также с влиянием pH люмена ( $pH_{in}$ ) на активность ФС II [12] и скорость переноса электронов между фотосистемами [13]. Светоиндуцированное закисление люмена ( $pH_{in} \downarrow$ ) подавляет активность ФС II и замедляет перенос электронов между ФС II и ФС I. При защелачивании стромы ( $pH_{out} \uparrow$ ) активируются ферредоксин-NADP-редуктаза и ферменты ЦКБ, что обеспечивает ускорение оттока электронов от ФС I [14]. Кроме этого, хлоропласти могут изменять свое расположение в клетке, приближаясь к ее адаксиальной (верхней) поверхности для более эффективного поглощения света, или удаляясь в глубину, избегая повреждений ФСА при избытке света [15]. *Медленные* механизмы регуляции (часы–сутки) связаны с изменениями экспрессии белков и светособирающих пигментов ФСА [16–22].

В контексте задачи о выяснении механизмов регуляции световых стадий фотосинтеза представляет интерес сравнительный анализ электронного транспорта в листьях родственных видов растений, произрастающих в географических зонах с низкой (умеренной) или высокой освещенностью. В настоящей работе описаны результаты исследования фотосинтетического переноса

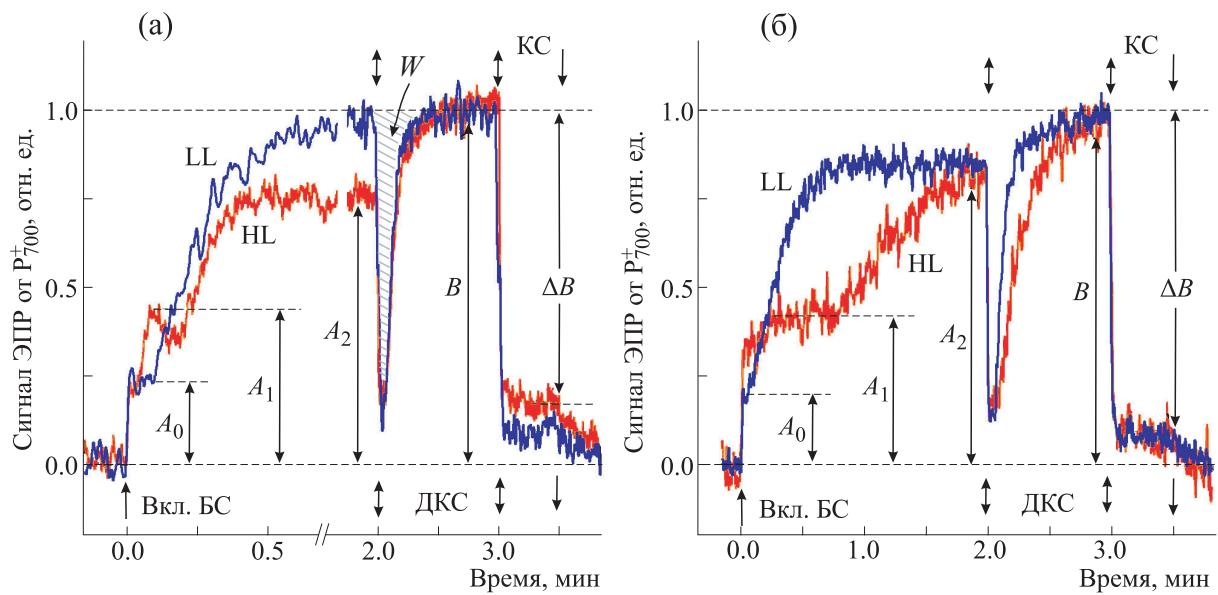
электронов в хлоропласти *in situ* (в листьях) теневыносливого и светолюбивого видов растений рода *Cucumis* – *C. sativus* (огурец) и *C. melo* (дыня). Изучены фотоиндуцированные превращения реакционного центра ФС I ( $P_{700}$ ) и флуоресценция хлорофилла (Хл) *a* в листьях растений, выращенных при высокой или низкой интенсивности света. Показано, что у изученных нами растений выявляются как внутриродовые сходства, так и межвидовые различия, проявляющиеся при исследовании кинетики фотоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$ .

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Растения.** Объектами исследования служили 3–4-недельные листья двух видов растений рода *Cucumis* (*C. sativus*, огурец, и *C. melo*, дыня), выращенных из коммерчески доступных семян [23]. Длительность светового периода в дневное время составляла 12 ч. Потоки света составляли 800–1000 мкмоль фотонов  $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  (сильный свет, обозначается как HL, high light) или 50–125 мкмоль фотонов  $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  (слабый свет, обозначается как LL, low light). Источником света служила светодиодная лампа УСС-90 Магистраль Ш (ООО «ТД ФОКУС», Россия), укомплектованная светодиодами с цветовой температурой 5000 К. Образец (второй или третий зрелый лист в верхней части побега) освещали с дорзальной стороны листа, обращенной в сторону верхнего эпидермиса. Ниже в качестве характерных приведены типичные результаты исследований, выполненных осенью 2020–2021 гг. и весной 2022 г.

**Электронный парамагнитный резонанс.** По величине характерного сигнала электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) от окисленных центров  $P_{700}^+$  следили за функционированием ЦЭТ хлоропластов в клетках растений *in situ* [24]. Образец (кусочек листа размером 4 × 25 мм) помещали в хорошо вентилируемый держатель, который закрепляли в прямоугольном резонаторе ЭПР-спектрометра модели E-4 (Varian, США). Условия освещения образцов и регистрации сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$  были описаны ранее [23–25]. Мощность микроволнового излучения составляла 10 мВт, амплитуда ВЧ-модуляции была равна 0.4 мТл. За редокс-превращениями  $P_{700}$  следили по величине низкополевого экстремума первой производной сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$  [24]. Для преимущественного возбуждения ФС I использовали дальний красный свет (ДКС,  $\lambda_{\text{макс}} = 707$  нм,  $\Delta\lambda_{1/2} = 5$  нм) интенсивностью 8 Вт  $\cdot m^{-2}$ . Для эффективного возбуждения ФС I и ФС II, образцы освещали белым светом (БС, 320 Вт  $\cdot m^{-2}$ )

<sup>1</sup> Термин «акклимация» означает выращивание растений в определенных условиях (например, при высокой или низкой интенсивности освещения). Говоря о растениях, выращенных при определенном освещении, мы используем термин «акклимация» растений к сильному (high light, HL) или слабому (low light, LL) свету. Термин «акклимация» не следует путать с термином «адаптация», означающим, что непосредственно перед измерениями фотосинтетических показателей листьев мы стандартизировали состояние образца, выдерживая («адаптируя»), например, образец в темноте непосредственно перед началом измерения. Растения одного рода могут иметь сходные свойства, приобретенные ими в ходе биологической эволюции. Сравнение видов одного рода позволяет выявить различия, проявляющиеся при акклимации растений. Термин «индукционные процессы» относится к кинетике фотосинтетических процессов в листьях растений, адаптированных к определенным условиям перед началом измерений [1].



**Рис. 2.** Типичные кинетики фотоиндуктированных изменений величины сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$  в листьях LL- и HL-растений *C. sativus* (а) и *C. melo* (б), выращенных при низкой (LL) или высокой (HL) интенсивности света, адаптированных в течение 10 мин к темноте. Сокращенные обозначения света различного спектрального состава и стадий роста сигнала ЭПР: отмеченные символами  $A_0$ – $A_1$ – $A_2$  стадии относятся к изменениям сигнала ЭПР при действии белого света (БС); стрелками, показанными рядом с символами ДКС и КС ( $\lambda_{\max} = 650$  нм), отмечены моменты переключения и выключения света. Все кривые нормированы на амплитуду  $B$  максимального сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$ , индуцируемого дальним красным светом (ДКС,  $\lambda_{\max} = 707$  нм), возбуждающим преимущественно ФС I.

или красным светом (КС,  $\lambda_{\max} = 650$  нм,  $\Delta\lambda_{1/2} = 10$  нм). Для выделения полос ДКС или КС из спектрального диапазона БС, создаваемого лампой накаливания мощностью 100 Вт, использовали интерференционные фильтры фирмы Carl Zeiss Jena (Германия). В качестве теплового фильтра, препятствующего нагреванию образцов за счет действия интенсивного БС, применяли водный фильтр, поглощающий инфракрасный свет (толщина слоя воды составляла 5 см [24, 25]).

**Оптические измерения редокс-превращений  $P_{700}$ .** Наряду с техникой спектроскопии ЭПР для регистрации редокс-превращений  $P_{700}$  мы использовали спектрометр DUAL-PAM-100 (Walz, Германия), который позволяет диагностировать состояние  $P_{700}$  и одновременно регистрировать индукцию флуоресценции Хл *a* [26]. Об окислении  $P_{700}$  судили по фотоиндукционному увеличению сигнала  $A_{870-830}$ , измеряемого по разности поглощения света при 870 и 830 нм. В качестве действующего («актиничного») света, возбуждающего обе фотосистемы (ФС I и ФС II), использовали красный свет, создаваемый фотодиодом ( $\lambda_{\max} = 635$  нм, световой поток  $\approx 1000$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ). Для преимущественного возбуждения ФС I и определения максимального уровня оптического сигнала от  $P_{700}^+$  использовали свет, испускаемый фотодиодом с  $\lambda_{\max} = 720$

нм (световой поток  $\approx 500$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ). Интенсивность измерительного инфракрасного света ( $\lambda = 870$  и 830 нм) составляла  $\approx 9$  мкмоль фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Потоки КС, ДКС и измерительного света, создаваемые светодиодами спектрометра DUAL-PAM-100, соответствуют интенсивностям света, равным  $\approx 190$ , 82 и 2  $\text{Вт} \cdot \text{м}^{-2}$  соответственно.

**Кинетика медленной индукции флуоресценции Хл *a*.** Кинетику фотоиндуктированных изменений выхода флуоресценции Хл *a* измеряли методом, описанным в работах [22, 23, 25, 26].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Кинетика фотоиндуктированных превращений  $P_{700}$  (измерения методом ЭПР).** На рис. 2 показаны типичные кинетические кривые фотоиндуктированного окисления  $P_{700}$  в адаптированных к темноте листьях растений *C. sativus* (рис. 2а) и *C. melo* (рис. 2б), выращенных при низкой (LL) или высокой (HL) интенсивности света. Эти кривые заметно различаются в зависимости от вида и условий выращивания растений.

В листьях огурца (*C. sativus*) в ответ на включение белого света, возбуждающего обе фотосистемы, после быстрого первоначального скачка сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$  (фаза  $A_0$ ) наблюдается замедле-

ние фотоокисления  $P_{700}$ . У HL-растений эта стадия характеризуется двумя фазами, обозначенными символами  $A_1$  и  $A_2$ . У LL-растений фаза  $A_1$  не видна, она сливается со стадией  $A_2$ . Скорости достижения стационарной концентрации  $P_{700}^+$  у LL- и HL-растений отличаются незначительно; при этом, однако, различаются стационарные уровни сигналов ЭПР. Разные величины сигналов отражают, вероятно, влияние условий акклиматации на относительный вклад ЦЭТ: уменьшение стационарного уровня  $P_{700}^+$  у HL-растений может происходить вследствие усиления притока электронов к  $P_{700}^+$  за счет их возврата в пластохиноновый пул от акцепторов ФС I за счет ЦЭТ.

После переключения БС на дальний красный свет ( $\lambda_{\text{макс}} = 707$  нм), возбуждающий преимущественно ФС I, окисленные центры  $P_{700}^+$  сначала быстро восстанавливаются ( $\tau_{1/2} \sim 5-20$  мс) за счет электронов, поступающих к  $P_{700}^+$  от молекул  $\text{PQH}_2$ . Затем, после истощения пула восстановленных молекул  $\text{PQH}_2$ , происходит ре-окисление  $P_{700}$  и устанавливается новый стационарный уровень сигнала ЭПР. Это происходит потому, что при действии ДКС сильно ослаблен приток электронов от ФС II, но продолжают активно срабатывать центры  $P_{700}$ . Параметр кинетической кривой, обозначенный на рис. 2а символом  $W$  (площадь над кривой переходного процесса после хроматического перехода  $\text{БС} \rightarrow \text{ДКС}$ ), пропорционален числу восстановленных переносчиков в ЭТЦ между ФС II и ФС I в момент переключения БС на ДКС [25]. Исходя из этого, можно определить относительную емкость пула восстановленных доноров электронов (параметр  $W$ ) в момент времени, предшествующий хроматическому переходу  $\text{БС} \rightarrow \text{ДКС}$ . Методика определения  $W$  подробно описана в работе [25].

Переключение ДКС на относительно слабый красный свет ( $\lambda_{\text{макс}} = 650$  нм), возбуждающий обе фотосистемы, приводит к заметному спаду сигнала на величину  $\Delta B$  вследствие притока электронов к  $P_{700}^+$  от ФС II. Интенсивность КС намного меньше интенсивности БС, частота срабатывания центров  $P_{700}$  на слабом КС ниже, чем при действии интенсивного БС. При действии КС поток электронов через ФС I ослабевает, поэтому значительно уменьшается амплитуда сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$ .

В листьях дыни (*C. melo*) кинетики фотоиндуцированных изменений сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$  в листьях LL- и HL-растений заметно различают-

ся. Основное различие касается скорости роста сигнала ЭПР на стадии  $A_2$ : у HL-растений эта фаза замедлена, а площадь  $S$  увеличена по сравнению с тем, что наблюдается у LL-растений. Мы полагаем, что одна из причин замедления роста сигнала у HL-растений и увеличения параметра  $W$  – возрастание вклада ЦЭТ, при котором электроны от акцепторов ФС I возвращаются в пластохиноновый пул и затем попадают к  $P_{700}^+$ , тем самым замедляя нарастание сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$ . Это предположение согласуется с тем, что в хлоропластах арабидопсиса, акклиматированных к сильному свету, возрастает относительное содержание комплексов  $b_6f$  [27, 28].

**Фотоокисление  $P_{700}$  и индукция флуоресценции Хл а.** Описанные выше особенности кинетики фотоокисления  $P_{700}$  в листьях LL- и HL-растений отражают структурно-функциональные различия ФСА у этих растений. Для выяснения механизмов, ответственных за многофазную кинетику редокс-превращений  $P_{700}$ , интересно было сравнить кинетики фотоиндуцированного окисления  $P_{700}$  и медленной индукции флуоресценции Хл а. Такие измерения были выполнены с помощью спектрометра DUAL-PAM-100, позволяющего одновременно следить за состоянием  $P_{700}$  по поглощению света (параметр  $A_{870-830}$ ) и регистрировать выход флуоресценции Хл а. Общеизвестно, что при комнатных температурах основной вклад во флуоресценцию листьев вносит свечение, испускаемое пигментными комплексами ФС II [29–32]. На рис. 3а показаны типичные кинетические кривые фотоиндуцированных изменений оптического параметра  $A_{875-830}$  и переменной составляющей флуоресценции Хл а ( $F_V(t)$ ), полученные на HL-листьях *C. sativus* при одном и том же протоколе освещения. Интенсивность переменной флуоресценции  $F_V(t)$  определяли как  $F_V(t) = F(t) - F_0$ , где  $F_0$  – начальный уровень флуоресценции Хл а до включения интенсивного актиничного света. На рис. 3б показана кривая медленной индукции флуоресценции в HL-листьях *C. sativus*, адаптированных в течение 10 мин к темноте. После включения непрерывного актиничного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм) интенсивность флуоресценции  $F(t)$  сначала быстро ( $\leq 0.5$  с) возрастает от исходного уровня  $F_0$  (измеряемого до включения интенсивного актиничного света) до максимального уровня  $F_{\text{max}}$ , а затем сравнительно медленно спадает к стационарному уровню  $F_T$ . Такая немонотонная кривая характерна для интактных листьев растений, адаптированных к темноте (эффект Каутского) [29–32].

Кинетика изменений  $A_{870-830}$  (рис. 3а), регистрируемая при действии непрерывного красного

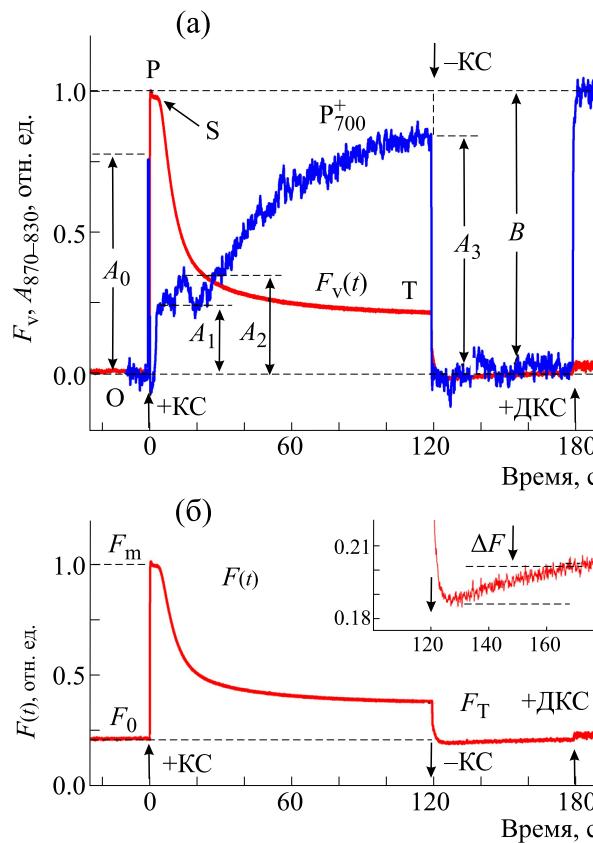


Рис. 3. (а) – Нормированные кинетики фотоиндуцированных изменений разностного сигнала  $A_{870-830}$ , пропорционального относительной концентрации  $P_{700}^+$ , и интенсивности переменной составляющей медленной индукции флуоресценции Хл  $a$  (переменная  $F_v(t)$ ) в HL-листьях  $C. sativus$ , адаптированных 10 мин к темноте. Вертикальными стрелками показаны моменты включения и выключения непрерывного красного света (КС,  $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм). В правой части рисунка видно увеличение сигнала  $A_{870-830}$  после включения дальнего красного света (ДКС,  $\lambda_{\text{макс}} = 720$  нм). (б) – Кинетика фотоиндуцированных изменений интенсивности флуоресценции Хл  $a$  (переменная  $F(t)$ ) в HL-листьях  $C. sativus$ , адаптированных 10 мин к темноте.

света, согласуется с кинетикой многофазных изменений сигнала ЭПР от  $P_{700}^+$  при действии непрерывного БС (рис. 2). На кинетической кривой, полученной для оптического сигнала  $A_{870-830}$ , видны сравнительно быстрые начальные фазы роста сигнала, которые затем сменяются более медленным ростом  $A_{870-830}$ .

Отметим важное обстоятельство, свидетельствующее об адекватности используемого нами параметра  $A_{870-830}$  для измерения редокс-состояния  $P_{700}$ . Как мы отмечали ранее [33], нельзя исключить того, что в величину сигнала  $A_{870-830}$  кроме  $P_{700}$  могли бы вносить определенный вклад редокс-превращения других переносчиков (например, ферредоксина и/или пластоцианина, см. подробнее работу [34]). Измерения концентрации  $P_{700}^+$  методом ЭПР свободны от этого недостатка: ферредоксин и пластоцианин при комнатных температурах не дают сигналов ЭПР, которые могли бы исказить динамику

изменений  $P_{700}^+$  [24]. Сравнивая кривые фотоокисления  $P_{700}$  двумя разными методами, следует обратить внимание на сходство кривых фотоокисления  $P_{700}$ , полученных методом ЭПР (рис. 2) и оптическим методом (рис. 3а). Заметим, что ранее на листьях *Hibiscus rosa-sinensis* [25] было показано, что измеренные методом ЭПР кинетики редокс-превращений  $P_{700}$ , индуцированных действием БС или КС близкой интенсивности, имеют общие закономерности. Таким образом, сравнение данных, полученных разными методами, позволяет заключить, что изменения параметра  $A_{870-830}$ , измеренные с помощью спектрометра DUAL-PAM-100, верно отражают закономерности кинетики редокс-превращений  $P_{700}$ , измеренных методом ЭПР. Преимуществом оптического метода является то, что он позволяет регистрировать быстрые изменения концентрации  $P_{700}^+$  ( $\geq 0.1$  мс), что затруднено при использо-

вании традиционной техники ЭПР-спектроскопии.

Сравнение кривых фотоокисления  $P_{700}^+$  и переменной составляющей кривой медленной индукции флуоресценции Хл  $a$  показывает (рис. 3а), что начальные стадии изменения редокс-состояния  $P_{700}$  совпадают по времени со значительным уменьшением интенсивности флуоресценции. Мы полагаем, что основные причины многофазной кинетики фотоокисления  $P_{700}^+$  и спада интенсивности флуоресценции связаны с ослаблением фотохимической активности ФС II и с ускорением оттока электронов от ФС I. Уменьшение интенсивности флуоресценции во время действия достаточно сильного непрерывного света может происходить: 1) вследствие усиления нефотохимического тушения флуоресценции в ФС II, 2) из-за перераспределения энергии света, поглощаемого светособирающими антеннами обеих фотосистем, в пользу ФС I, 3) за счет ре-окисления акцепторов электрона в ФС II ( $PQ_A$  и  $PQ_B$ ) и пластохинонового пула ( $PQH_2/PQ$ ), обусловленного ускорением оттока электронов от ФС I в результате активации ЦКБ [29–33]. Нельзя исключить, что уменьшению выхода флуоресценции может также способствовать перемещение хлоропластов внутри клетки [15].

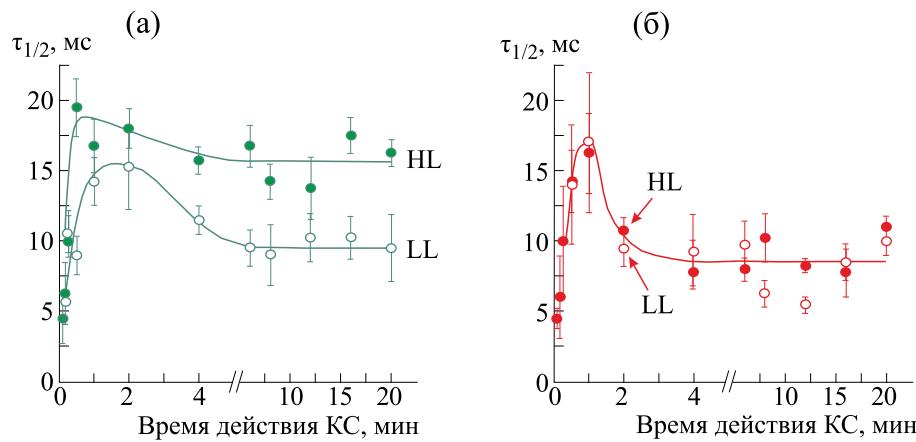
После выключения красного актиничного света наблюдается немонотонный переходной процесс возврата интенсивности флуоресценции к уровню, совпадающему с исходным уровнем  $F_0$  в темноте. Имеются основания считать, что характерный «перехлест», регистрируемый в темноте (параметр  $\Delta F$ , см. врезку на рис. 3б), отражает спад транс-тилакоидной разности рН ( $\Delta pH$ ) в темноте после выключения света (см. обоснование в работе [26], в которой показано, что инфильтрация в лист протонофора нигерицина подавляет «перехлест»  $\Delta F$ ). Адаптация растений к темноте (или к слабому измерительному свету) после выключения актиничного света сопровождается диссипацией  $\Delta pH$ , о чем свидетельствует увеличение интенсивности флуоресценции, характеризуемое параметром  $\Delta F$ .

**Восстановление  $P_{700}^+$  в темноте.** После выключения непрерывного КС сигнал  $A_{870-830}$  быстро спадает (рис. 3а). Падение сигнала  $A_{870-830}$  отражает восстановление окисленных центров  $P_{700}^+$  за счет доноров электрона, поступающих из пула восстановленных молекул  $PQH_2$  (через цитохромный комплекс  $b_6f$  и пластоцианин:  $PQH_2 \rightarrow b_6f \rightarrow PC \rightarrow P_{700}^+$ ). Кинетика спада сигнала  $A_{870-830}$  после выключения света имеет экспоненциальный характер, она может быть охарактери-

зована временем полувосстановления  $P_{700}^+$  (параметр  $t_{1/2}$ ) [26, 36]. Скорость окисления  $PQH_2$  цитохромным комплексом  $b_6f$ , как известно (см. подробнее [35, 36]), замедляется при закислении люмена ( $pH_{in} \downarrow$ ). Окисление молекулы  $PQH_2$  до  $PQ$  сопряжено с выделением двух протонов в люмен ( $PQH_2 \rightarrow PQ + 2H_{in}^+$ ), увеличение концентрации ионов водорода внутри люмена замедляет окисление  $PQH_2$ . Поэтому по скорости восстановления  $P_{700}^+$  после выключения актиничного света можно судить о величине  $pH_{in}$  [35, 36].

Зависимости кинетического параметра  $t_{1/2}$  от длительности действия красного актиничного света, измеренные для двух видов растений рода *Cicutis*, акклиматированных к сильному (HL) или слабому (LL) свету, показаны на рис. 4. Видно, что во всех случаях, после кратковременной экспозиции листьев к красному свету, возбуждающему обе фотосистемы, значения  $t_{1/2}$  близки к  $\approx 5$  мс. Это время включает в себя время образования  $PQH_2$  в ФС II и диффузии  $PQH_2$  к цитохромному комплексу  $b_6f$ , а также характерное время реакции окисления  $PQH_2$ , когда еще не произошло значительного уменьшения  $pH_{in}$ . Замедление восстановления  $P_{700}^+$  наступает при  $pH_{in} \leq 7$ , когда тормозится окисление  $PQH_2$  цитохромным комплексом [35]. Ранее нами было показано, что в хлоропластах некоторых видов растений (бобы *Vicia faba*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Tradescantia*), параметр  $t_{1/2}$  монотонно возрастал с увеличением длительности освещения [26, 33, 35, 36]. Например, в листьях традесканции после достаточно длительной экспозиции к интенсивному красному свету ( $\sim 2-8$  мин), значение параметра  $t_{1/2}$  увеличивалось до  $\approx 25-35$  мс, что соответствует уменьшению рН люмена до  $pH_{in} \sim 6.2$  [26, 33].

В отличие от упомянутых выше монотонных зависимостей параметра  $t_{1/2}$  от длительности световой экспозиции, для листьев *C. sativus* (рис. 4а) и *C. melo* (рис. 4б) мы наблюдали немонотонные зависимости  $t_{1/2}$  от длительности освещения. В первое время после начала освещения ( $\sim 1-2$  мин) происходило увеличение  $t_{1/2}$  до  $\sim 15-20$  мс, отражающее замедление окисления  $PQH_2$  цитохромным комплексом в результате светоиндуцированного закисления люмена. Однако по мере увеличения продолжительности световой экспозиции, скорость восстановления  $P_{700}^+$  в темноте после выключения актиничного света возрастила: после достаточно длительного освещения листьев ( $\geq 2-4$  мин) параметр  $t_{1/2}$  уменьшался. При этом в листьях HL- и LL-растений теневыносливого вида *C. sativus* (огурец) зависимости  $t_{1/2}$  от



**Рис. 4.** Зависимость параметра  $\tau_{1/2}$  в листьях *C. sativus* (а) и *C. melo* (б) от продолжительности действия красного актиничного света (КС,  $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм). Величина  $\tau_{1/2}$  – время восстановления в темноте 50% центров  $P_{700}^+$  после выключения КС. Перед началом измерений образцы для стандартизации освещали красным светом (2 мин). Затем образцы 10 мин адаптировали к темноте, после чего включали КС и по кинетике спада  $P_{700}^+$  измеряли  $\tau_{1/2}$  в зависимости от длительности действия КС. Показаны средние значения параметра  $\tau_{1/2}$  ( $n = 4$ ) и их среднеквадратичные отклонения.

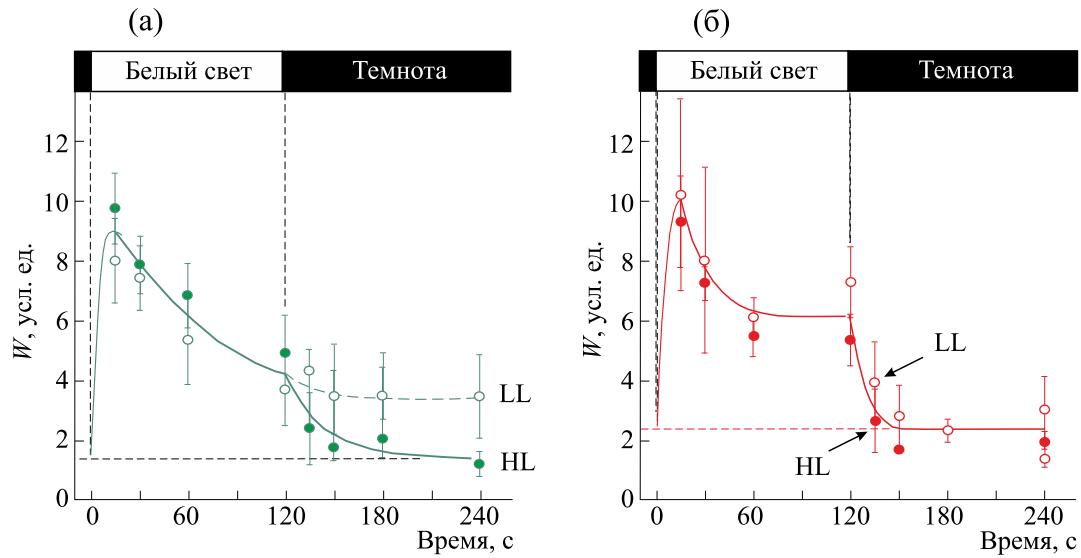
длительности освещения различались: у LL-растений уменьшение  $\tau_{1/2}$  было выражено сильнее, чем у HL-растений. В листьях *C. melo* (дыня) параметр  $\tau_{1/2}$  уменьшался до  $\approx 10$  мс, однако разницу между зависимостями для HL- и LL-растений мы не наблюдали. Эти свидетельствуют о том, что свойства ФСА листьев светолюбивого вида *C. melo*, оцениваемые по значениям  $\tau_{1/2}$ , мало чувствительны к усилению интенсивности света при выращивании растений.

Одной из причин спада параметра  $\tau_{1/2}$  в зависимостях, показанных на рис. 4, может быть светоиндуцированная активация ферментов, катализирующих работу ЦКБ и синтез АТФ. В результате ускорения процессов, происходящих в ЦКБ, возрастает потребление АТФ и NADPH. За счет ускорения работы АТФ-сингтаз может незначительно снижаться транс-тилакоидная разность рН ( $\Delta p\text{H} = p\text{H}_{\text{out}} - p\text{H}_{\text{in}}$ ), используемая в качестве источника энергии для работы АТФ-сингтазы. В результате ускорения выхода протонов из люмена в строму через активно работающие АТФ-сингтазы значение  $p\text{H}_{\text{in}}$  повышается [13], потому, как мы полагаем, возрастает поток электронов в цепи НЭТ и ускоряется приток протонов в люмен, поддерживая интенсивный оборот АТФ-сингтазных комплексов. Такая цепь событий, инициированных активацией ЦКБ, позволяет объяснить ускорение НЭТ, что отражается в уменьшении рН-зависимого параметра  $\tau_{1/2}$  при достаточно длительном действии актиничного света (рис. 4). Упомянутые выше процессы регуляции электронного транспорта в хлоропластах обычно называются явлением «фотосинтетиче-

ского контроля» [13, 36], они адекватно описываются в рамках нашей математической модели рН-зависимой регуляции световых стадий фотосинтеза (см., например, «Приложение» в нашей работе [25]).

Другая возможная причина спада  $\tau_{1/2}$  по мере освещения листьев рода *Cucumis* – структурная реорганизация ламеллярной системы хлоропластов. Например, в работах [37–39] было показано, что при освещении хлоропластов арабидопсиса, адаптированных к темноте, увеличивается просвет люмена и уменьшается диаметр гран. Благодаря этому облегчается латеральная диффузия пластицианина внутри тилакоидов и может ускоряться перенос электронов от комплексов ФС II, находящихся преимущественно в мембранах гран, к цитохромным комплексам  $b_6f$ , локализованным в межгранных тилакоидах.

Рассмотренные выше механизмы регуляции электронного транспорта проявляются также в том, что во время освещения адаптированных к темноте листьев немонотонно изменяется число восстановленных переносчиков электрона (параметр  $W$ ) в цепи между двумя фотосистемами. Основной вклад в величину  $W$  вносят восстановленные молекулы пластицианового пула ( $\text{PQH}_2$ ) [22, 25, 40]. Использованная в настоящей работе методика определения числа восстановленных переносчиков цепи между фотосистемами основана на измерении кинетики редокс-превращений  $\text{P}_{700}^+$  после хроматического перехода БС (или КС, возбуждающий обе фотосистемы)  $\rightarrow$  ДКС ( дальний красный свет, возбуждающий преимущественно ФС I). Суть этого подхода заключает-



**Рис. 5.** Зависимость параметра  $W$  в LL- и HL-листьях *C. sativus* (а) и *C. melo* (б) от продолжительности действия БС. Параметр  $W$  характеризует относительную емкость пула восстановленных доноров электронов в ЦЭТ между фотосистемами. Перед началом измерений образцы для стандартизации освещали красным светом (2 мин), а затем в течение 10 мин адаптировали к темноте. Показаны средние значения параметра  $\tau_{1/2}$  ( $n=4$ ) и их среднеквадратичные отклонения.

ся в том, что площадь заштрихованного участка над кинетической кривой (рис. 2, площадь  $W$ ) пропорциональна количеству электронов  $W$ , поступающих к ФС I от восстановленных переносчиков ЭТЦ между фотосистемами во время действия ДКС. Детали того, как по площади  $S$  можно вычислить число электронных эквивалентов  $W$  в расчете на один центр  $P_{700}$ , подробно описаны в нашей работе [25].

На рис. 5 показано, как изменяется параметр  $W$  в ходе освещения непрерывным белым светом листьев двух видов рода *Cucumis*, адаптированных к темноте перед началом измерений. Общая закономерность изменений  $W$  такова: в ответ на включение БС параметр  $W$  увеличивается до  $W \approx 10$  (до начала освещения значение  $W$  было равно  $W \approx 2$ ), а затем, приблизительно через 15 с после начала освещения,  $W$  уменьшается. Характерные времена спада  $W$  во время освещения составляли:  $\tau_{1/2} \approx 15$  с в листьях *C. sativus* и  $\tau_{1/2} \approx 30$  с в листьях *C. melo*. Очевидно, что падение  $W$  во время действия непрерывного БС вызвано двумя факторами: 1) ослаблением активности ФС II (уменьшается приток электронов от ФС II к PQ) и 2) ускорением оттока электронов в ЦКБ от ФС I, способствующим реокислению  $\text{PQH}_2$ .

Перераспределение электронных потоков между НЭТ и ЦЭТ – другой фактор, который может влиять на динамику изменений  $W$  в ходе освещения листьев, адаптированных к темноте. Считается, что на начальном этапе освещения, когда поток электронов в ЦКБ ограничен, вклад

ЦЭТ в отток электронов от ФС I увеличен [41–43]. Функциональный смысл этого явления понятен – ЦЭТ позволяет избежать накопления избыточного числа восстановленных переносчиков на акцепторном участке ФС I, когда отток электронов от ФС I ограничен из-за низкой активности ферредоксин-NADP-редуктазы и ферментов ЦКБ. При этом ЦЭТ поддерживает *транс*-тилакоидный перенос протонов, что обеспечивает синтез молекул АТФ, необходимых для функционирования ЦКБ [7]. По мере светоиндуцированной активации ЦКБ отток электронов от ФС I в ЦКБ ускоряется (характерное время этого процесса составляет  $\sim 1$ –2 мин [1]). При этом соответственно ускоряется реокисление  $\text{PQH}_2$  за счет более частого срабатывания реакционных центров ФС I, что отражается в уменьшении величины  $W$ . К сожалению, точность определения  $W$  недостаточно высока, чтобы мы могли с уверенностью судить о влиянии условий акклиматации на ход временных зависимостей  $W(t)$  для каждого из изученных нами видов растений.

После выключения света параметр  $W$  уменьшается. Очевидно, что это происходит за счет функционирования терминальной оксидазы РТОХ, катализирующей окисление  $\text{PQH}_2$  молекулярным кислородом – явление, получившее название «хлорореспирация» (chlororespiration) [44]. Можно заметить, что кривые спада  $W$  в темноте у LL- и HL-растений вида *C. sativus* различаются (рис. 5а), в то время как у LL- и HL-растений вида *C. melo* кинетики спада  $W$  в темноте практически совпадают (рис. 5б). Это наблюде-

ние коррелирует с данными о различиях временных зависимостей параметра  $\tau_{1/2}$  у LL- и HL-растений вида *C. sativus* (рис. 4а) и об отсутствии подобных различий у *C. melo* (рис. 4б).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное в настоящей работе исследование фотосинтетического транспорта электронов в хлоропластах *C. sativus* (огурец) и *C. melo* (дыня) выявило родовые сходства этих видов, с одной стороны, и межвидовые различия – с другой. Оба вида растений имеют близкие морфологические и функциональные свойства, например, похожие формы листьев. У обоих видов растений наблюдаются немонотонные зависимости параметра  $\tau_{1/2}$  (рис. 4), которые отличают их от теневыносливых и светолюбивых видов растений рода *Tradescantia* [25, 26, 33]. Межвидовые различия растений рода *Cucumis* (огурцы и дыни), проявляются в кинетике фотоиндуцированного окисления  $P_{700}^+$ . Различия этих видов были отмечены ранее при сравнении свойств тилакоидных мембран (микровязкость липидного бислоя тилакоидных мембран) и чувствительности ФСА листьев огурца и дыни к повышению температуры [45, 46]. Межвидовые различия проявляются особенно заметно при варьировании условий выращивания растений. В настоящей работе показано, что в HL-листьях вида *C. melo* быстрее достигается стационарная концентрация  $P_{700}^+$  по сравнению с HL-растениями теневыносливого вида *C. sativus* (рис. 2). При этом у HL-растений вида *C. melo* четко выделяются две фазы фотоиндуцированного роста  $P_{700}^+$  – сравнительно быстрая начальная и последующая более медленная стадия окисления  $P_{700}^+$ .

Анализ особенностей кинетики фотоокисления  $P_{700}^+$ , сравнение ее с медленной индукцией флуоресценции Хл *a*, описанной нами ранее [23], а также изучение скорости восстановления  $P_{700}^+$  в темноте после выключения действующего света, возбуждающего обе фотосистемы, свидетельствуют, что наблюдаемые межвидовые различия у изученных теневыносливых и светолюбивых растений отражают структурно-функциональные различия их ФСА. Изучив кинетику восстановления  $P_{700}^+$  после выключения света, мы пришли к заключению, что активация ЦКБ – один из основных факторов, способствующих ускорению НЭТ по мере освещения хлоропластов (рис. 4). При акклиматации растений к свету различной интенсивности может изменяться соотношение между относительными вкладами разных путей переноса электронов в хлоропластах (НЭТ или ЦЭТ). Латеральная гетерогенность тилакоидных

мембран, как известно [37–39, 47, 48], проявляется в неоднородном распределении в белковых комплексах ФС I, ФС II и  $b_6f$ . Белковые комплексы ФС II и  $b_6f$ , локализованные в мембранах плотно упакованных тилакоидов гран, вносят основной вклад в НЭТ ( $H_2O \rightarrow Fc II \rightarrow PQ \rightarrow b_6f \rightarrow \rightarrow Ps \rightarrow Fc I \rightarrow Fd \rightarrow CKB$ ). Комплексы ФС I и  $b_6f$ , расположенные в межгранных тилакоидах, включены в ЦЭТ вокруг ФС I ( $Fc I \rightarrow Fd \rightarrow PQ \rightarrow b_6f \rightarrow \rightarrow Ps \rightarrow Fc I$ ). Перераспределение потоков электронов между цепями НЭТ и ЦЭТ, обусловленное варьированием свойств ФСА растений при их акклиматации к сильному или слабому свету (изменяется относительное содержание белковых электрон-транспортных комплексов), может вызывать структурно-функциональные изменения хлоропластов, затрагивающие относительное содержание комплексов ФС I и ФС II и распределение цитохромных  $b_6f$  комплексов между мембранами гранальных и межгранных тилакоидов [28, 37–39]. Полученные нами данные согласуются с тем, что вариабельность путей переноса электронов, проявляющаяся при акклиматации растений к свету различной интенсивности, может определяться изменением баланса НЭТ и ЦЭТ: при выращивании растений на сильном свете относительный вклад ЦЭТ возрастает. Этому, в частности, может способствовать увеличение относительного содержания цитохромных комплексов  $b_6f$  и АТФ-синтазных комплексов, что было обнаружено при акклиматации арабидопсиса к сильному свету [27, 28]. Связанное с этим ускорение оттока электронов от ФС I позволяет избегать накопления избыточного количества восстановленных низкопотенциальных акцепторов ФС I, служащих донорами электронов для  $O_2$ , что должно предохранять ФСА от окислительного стресса.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа проводилась в рамках научно-исследовательских работ физического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (тема, «Физические основы строения, функционирования и регуляции биологических систем», Госрегистрация № 012004-085-35), а также при финансовой и материально-технической (приборной) поддержке Российского фонда «Вольное дело».

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Н.А. Маринин и И.С. Сусличенко – культивирование растений и подготовка образцов, измерения кинетики фотоиндуцированных изменений сигналов ЭПР и оптических характеристик листьев, первичная обработка экспериментальных данных. А.Н. Тихонов – планирование работы, обработка данных, написание статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Эдвардс Д. и Уокер Д., *Фотосинтез C<sub>3</sub>- и C<sub>4</sub>-растений: механизмы и регуляция* (Мир, М., 1986).
2. Walker D. A. The Z-scheme – down hill all the way. *Trends Plant Sci.*, **7** (4), 183–185 (2002). DOI: 10.1016/S1360-1385(02)02242-2
3. Ruban A. *The Photosynthetic Membrane: Molecular Mechanisms and Biophysics of Light Harvesting* (John Wiley & Sons, Ltd., 2012). DOI: 10.1002/9781118447628
4. DalCorso G., Pesaresi P., Masiero S., Aseeva E., Schünemann D., Finazzi G., Joliot P., Barbato R., and Leister D. A complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in *Arabidopsis*. *Cell*, **132** (2), 273–285 (2008). DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.028
5. Strand D. D., Fisher N., and Kramer D. M. Distinct energetics and regulatory functions of the two major cyclic electron flow pathways in chloroplasts. In: *Chloroplasts: Current Research and Future Trends*, Ed. by H. Kirchhoff (Caister Academic Press, Norfolk, UK, 2016), pp. 89–100. DOI: 10.21775/9781910190470
6. Asada K. The water–water cycle in chloroplasts. Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.*, **50** (1), 601–639 (1999). DOI: 10.1146/annurev.arplant.50.1.601
7. Shikanai T. and Yamamoto H. Contribution of cyclic and pseudo-cyclic electron transport to the formation of proton motive force in chloroplasts. *Mol. Plant*, **10** (1), 20–29 (2017). DOI: 10.1016/j.molp.2016.08.004
8. Li Z., Wakao S., Fischer B. B., and Niyogi K. K. Sensing and responding to excess light. *Ann. Rev. Plant Biol.*, **60** (1), 239–260 (2009). DOI: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103844
9. Demmig-Adams B., Cohu C. M., Muller O., and Adams W. W. Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: from seconds to seasons. *Photosynth. Res.*, **113** (1–3), 75–88 (2012). DOI: 10.1007/s11120-012-9761-6
10. Horton P. Optimization of light harvesting and photoprotection: molecular mechanisms and physiological consequences. *Phil. Trans. Roy. Soc. B: Biol. Sci.*, **367** (1608), 3455–3465 (2012). DOI: 10.1098/rstb.2012.0069
11. Bellafiore S., Barneche F., Peltier G., and Rochaix J.-D. State transitions and light adaptation require chloroplast thylakoid protein kinase STN7. *Nature*, **433** (7028), 892–895 (2005). DOI: 10.1038/nature03286
12. Li X.-P., Gilmore A. M., Caffarri S., Bassi R., Golan T., Kramer D., and Niyogi K. K. Regulation of photosynthetic light harvesting involves intrathylakoid lumen pH sensing by the PsbS protein. *J. Biol. Chem.*, **279** (22), 22866–22874 (2004). DOI: 10.1074/jbc.M402461200
13. Tikhonov A. N. pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts. *Photosynth. Res.*, **116** (2–3), 511–534 (2013). DOI: 10.1007/s11120-013-9845-y
14. Rochaix J.-D. Regulation of photosynthetic electron transport. *Biochim. Biophys. Acta*, **1807** (3), 375–383 (2011). DOI: 10.1016/j.bbabi.2010.11.010
15. Kasahara M., Kagawa T., Oikawa K., Suetsugu N., Miyao M., and Wada M. Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature*, **420** (6917), 829–832 (2002). DOI: 10.1038/nature01213
16. Liu L., Chow W. S., and Anderson J. M. Light quality during growth of *Tradescantia albiflora* regulates photosystem stoichiometry, photosynthetic function and susceptibility to photoinhibition. *Physiol. Plantarum*, **89** (4), 854–860 (1993). DOI: 10.1111/j.1399-3054.1993.tb05296.x
17. Lichenthaler H. K., Babani F., and Langsdorf G. Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity in sun and shade leaves of trees. *Photosynth. Res.*, **93** (1–3), 235–244 (2007). DOI: 10.1007/s11120-007-9174-0
18. Lichenthaler H. K., Ac A., Marek M. V., Kalina J., and Urban O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiol. Biochem.*, **45** (8), 577–588 (2007). DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.04.006
19. Matsubara S., Förster B., Waterman M., Robinson S. A., Pogson B. J., Gunning B., and Osmond B. From eco-physiology to phenomics: some implications of photoprotection and shade–sun acclimation *in situ* for dynamics of thylakoids *in vitro*. *Phil. Trans. Roy. Soc. B: Biol. Sci.*, **367** (1608), 3503–3514 (2012). DOI: 10.1098/rstb.2012.0072
20. Kono M. and Terashima I. Long-term and short-term responses of the photosynthetic electron transport to fluctuating light. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **137**, 89–99 (2014). DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2014.02.016
21. Kaiser E., Morales A., Harbinson J., Kromdijk J., Heuvelink E., and Marcelis L. F. M. Dynamic photosynthesis in different environmental conditions. *J. Exp. Botany*, **66** (9), 2415–2426 (2015). DOI: 10.1093/jxb/eru406
22. Suslichenko I. S. and Tikhonov A. N. Photo-reducible plastoquinone pools in chloroplasts of *Tradescantia* plants acclimated to high and low light. *FEBS Lett.*, **593** (8), 788–798 (2019). DOI: 10.1002/1873-3468.13366

23. Беньков М. А., Сусличенко И. С., Трубицин Б. В. и Тихонов А. Н. Влияние акклиматации растений на электронный транспорта в мембранах хлоропластов *Cucumis sativus* и *Cucumis melo*. *Биол. мембрany*, **40** (3), 172–187 (2023). DOI: 10.31857/S0233475523030039
24. Рууге Э. К. и Тихонов А. Н. Электронный парамагнитный резонанс: исследование механизмов регуляции световых стадий фотосинтеза растений. *Биофизика*, **67** (3), 516–523 (2022). DOI: 10.31857/S0006302922030097
25. Suslichenko I. S., Trubitsin B. V., Vershubskii A. V., and Tikhonov A. N. The noninvasive monitoring of the redox status of photosynthetic electron transport in *Hibiscus rosa-sinensis* and *Tradescantia* leaves. *Plant Physiol. Biochem.*, **185**, 233–243 (2022). DOI: 10.1016/j.plaphy.2022.06.002
26. Ptushenko V. V., Zhigalova T. V., Avercheva O. V., and Tikhonov A. N. Three phases of energy-dependent induction of  $P_{700}^+$  and Chl *a* fluorescence in *Tradescantia fluminensis* leaves. *Photosynth. Res.*, **139** (1–3), 509–522 (2019). DOI: 10.1007/s11120-018-0494-z
27. Puthiyaveetil S., Kirchhoff H., and Höhner R. Structural and functional dynamics of the thylakoid membrane system. In: *Chloroplasts: Current Research and Future Trends*, Ed. by H. Kirchhoff (Caister Academic Press, Norfolk, UK, 2016), pp. 59–87. DOI: 10.21775/9781910190470
28. Flannery S. E., Hepworth C., Wood W. H. J., Pastorelli F., Hunter C. N., Dickman M. J., Jackson P. J., and Johnson M. P. Developmental acclimation of the thylakoid proteome to light intensity in *Arabidopsis*. *Plant J.*, **105** (1), 223–244 (2021). DOI: 10.1111/tpj.15053
29. Караваев В. А. и Кукушкин А. К. Исследование состояния электронно-транспортной цепи в листьях высших растений методом быстрой индукции флуоресценции. *Биофизика*, **21** (5), 862–866 (1976).
30. Lazár D. Chlorophyll *a* fluorescence induction. *Biochim. Biophys. Acta*, **1412** (1), 1–28 (1999). DOI: 10.1016/S0005-2728(99)00047-X
31. Stirbet A. and Govindjee G. The slow phase of chlorophyll *a* fluorescence induction in silico: Origin of the S–M fluorescence rise. *Photosynth. Res.*, **130** (1–3), 193–213 (2016). DOI: 10.1007/s11120-016-0243-0
32. Kalaji H. M., Schansker G., Bresic M., Bussotti F., Calatayud A., Ferroni L., Goltsev V., Guidi L., Jajoo A., Li P., Losciale P., Mishra V. K., Misra A. N., Nebauer S. G., Pancaldi S., Penella C., Pollastrini M., Suresh K., Tambussi E., Yannicci M., Zivcak M., Cetner M. D., Samborska I. A., Stirbet A., Olsovská K., Kunderliková K., Shelonzeck H., Rusinowski S., and Baba W. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynth. Res.*, **132**, 13–66 (2017). DOI: 10.1007/s11120-016-0318-y
33. Сусличенко И. С., Трубицин Б. В. и Тихонов А. Н. Регуляция электронного транспорта в хлоропластах: индукционные процессы в листьях традесканции. *Биофизика*, **25** (1) (принято к печати в 2024 г.).
34. Klughammer C. and Schreiber U. Deconvolution of ferredoxin, plastocyanin, and  $P_{700}$  transmittance changes in intact leaves with a new type of kinetic LED array spectrophotometer. *Photosynth. Res.*, **128**, 195–214 (2016). DOI: 10.1007/s11120-016-0219-0
35. Tikhonov A. N., Khomutov G. B., Ruuge E. K., and Blumenfeld L. A. Electron transport control in chloroplasts. Effects of photosynthetic control monitored by the intra-thylakoid pH. *Biochim. Biophys. Acta*, **637** (2), 321–333 (1981). DOI: 10.1016/0005-2728(81)90171-7
36. Tikhonov A. N. The cytochrome *b*/*f* complex: Biophysical aspects of its functioning in chloroplasts. In *Membrane protein complexes: structure and function, subcellular biochemistry*, Ed. by J. R. Harris and E. J. Boekema (Springer, Singapore, 2018), vol. 87, pp. 287–328. DOI: 10.1007/978-981-10-7757-9
37. Kirchhoff H., Hall C., Wood M., Herbstová M., Tsabari O., Nevo R., Charuvi D., Shimoni E., and Reich Z. Dynamic control of protein diffusion within the granal thylakoid lumen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20248–20253 (2011). DOI: 10.1073/pnas.1104141109
38. Herbstová M., Tietz S., Kinzel C., Turkina M., and Kirchhoff H. Architectural switch in plant photosynthetic membranes induced by light stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 20130–20135 (2012). DOI: 10.1073/pnas.1214265109
39. Kirchhoff H., Li M., and Puthiyaveetil S. Sublocalization of cytochrome *b*/*f* complexes in photosynthetic membranes. *Trends Plant Sci.*, **22**, 574–582 (2017). DOI: 10.1016/j.tplants.2017.04.004
40. Stiehl H. H. and Witt H. T. Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis. *Z. Naturforsch. Teil B*, **24**, 1588–1598 (1969). DOI: 10.1515/znb-1969-1219
41. Joliot P. and Joliot A. Cyclic electron transfer in plant leaf. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 10209–10214 (2002). DOI: 10.1073/pnas.102306999
42. Joliot P. and Johnson G. N. Regulation of cyclic and linear electron flow in higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 13317–13322 (2011). DOI: 10.1073/pnas.1110189108
43. Yamori W. and Shikanai T. Physiological functions of cyclic electron transport around Photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. *Ann. Rev. Plant Biol.*, **67** (1), 81–106 (2016). DOI: 10.1146/annurev-arplant-043015-112002
44. Krieger-Liszkay A. and Feilke, K. The dual role of the plastid terminal oxidase PTOX: Between a protective and a pro-oxidant function. *Front. Plant Sci.*, **6**, 1147 (2016). DOI: 10.3389/fpls.2015.01147
45. Лютова М. И. и Тихонов А. Н. Сопоставление температурной зависимости подвижности липидо-растворимой спиновой метки в тилакоидных мембранах хлоропластов дыни и огурца. *Биофизика*, **33**, 460–464 (1988).
46. Tikhonov A. N. and Vershubskii A. V. Temperature-dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts in vitro and in silico. *Photosynth. Res.*, **146** (1–3), 299–329 (2020). DOI: 10.1007/s11120-020-00777-0

47. Anderson J. M. Distribution of the cytochromes of spinach chloroplasts between the appressed membranes of grana stacks and stroma-exposed thylakoid regions. *FEBS Lett.*, **138** (1), 62–66 (1982).  
DOI: 10.1016/0014-5793(82)80395-5
48. Dekker, J. P., and Boekema, E. J. Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants. *Biochim. Biophys. Acta*, **1706**, 12–39 (2005).  
DOI: 10.1016/j.bbabi.2004.09.009

## Regulation of Electron Transport in Chloroplasts: Induction Processes in the Leaves of *Cucumis* Genus

N.A. Marinin\*, I.S. Suslichenko\*, and A.N. Tikhonov\*

\*Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/2, Moscow, 119991 Russia

In this work, we describe results of our study of electron transport in chloroplasts *in situ* (leaves) of two species of the *Cucumis* genus, shade-tolerant species *C. sativus* (cucumber) and light-loving species *C. melo* (melon), grown at high light (800–1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) or low light (50–125  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) conditions. The light-induced processes of electron transport were monitored by using the electron paramagnetic resonance (EPR) and optical methods (a difference signal from  $\text{P}_{700}^+$ ), and the yield of chlorophyll *a* fluorescence. It has been demonstrated that the plants grown at high light reveal high rates of  $\text{P}_{700}$  photooxidation and fluorescence decrease, as compared to plants grown at low light. The data obtained are discussed in the context of electron transport regulation mechanisms in shade-tolerant and light-loving species of the *Cucumis* genus.

*Keywords:* chloroplasts, photosynthetic electron transport, electron paramagnetic resonance, optical spectroscopy, acclimation to strong and moderate light