

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ХЛОРОПЛАСТАХ: ИНДУКЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЛИСТЬЯХ ТРАДЕСКАНЦИИ

© 2025 г. И.С. Сусличенко\*, Б.В. Трубицин\*, 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 31.05.2024 г.

После доработки 14.06.2024 г.

Принята к публикации 24.06.2024 г.

Описаны результаты сравнительного исследования переноса электронов в хлоропластах *in situ* в листьях теневыносливого и светолюбивого видов традесканции (*T. fluminensis* и *T. sillamontana*), выращенных в условиях сильного ( $800\text{--}1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ) или слабого (умеренного) освещения ( $50\text{--}125$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ). За процессами транспорта электронов следили методами электронного парамагнитного резонанса и оптической спектроскопии. Изучены фотоиндуцированные редокс-превращения первичного донора электронов фотосистемы I ( $P_{700}$ ) и медленная индукция флуоресценции хлорофилла *a*. Показано, что растения, акклиматизированные к высокой интенсивности света, характеризуются более быстрыми процессами окисления  $P_{700}$  и затухания флуоресценции хлорофилла *a* по сравнению с растениями, выращенными при низкой интенсивности света. Полученные данные анализируются в контексте «краткосрочных» механизмов рН-зависимой регуляции электронного транспорта в интактных хлоропластах (нефотохимическое тушение возбуждения в фотосистеме II, замедление окисления пластохинола цитохромным  $b_6f$ -комплексом, активация реакций цикла Кальвина–Бенсона).

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

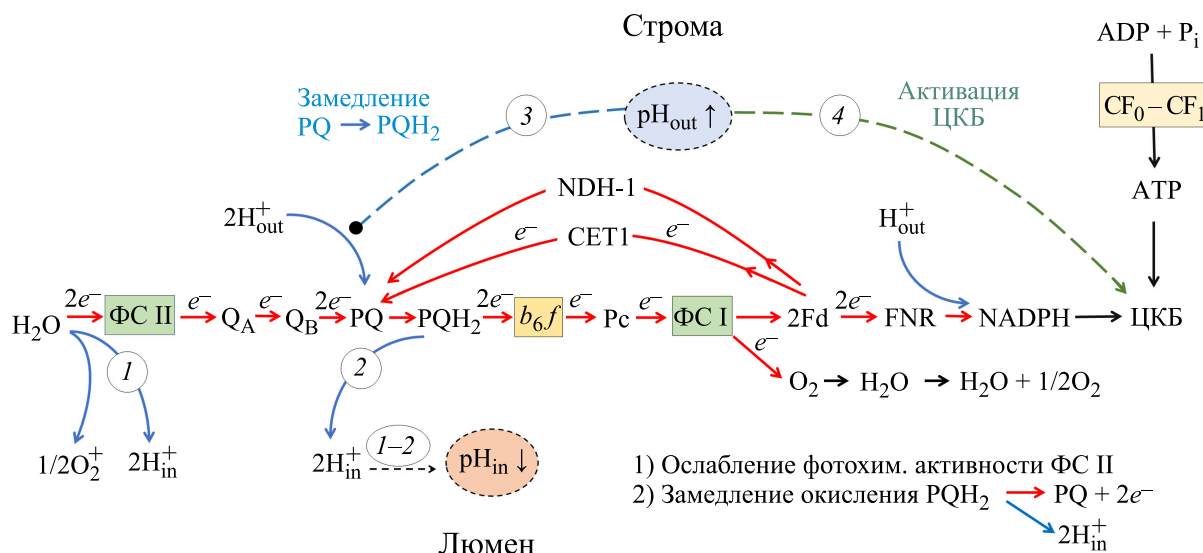
DOI: 10.31857/S0006302925020053, EDN: LACSEK

Выяснение механизмов регуляции электронного и протонного транспорта в фотосинтетических системах – актуальная задача биофизики фотосинтеза. В мембранах фотосинтетического аппарата (ФСА) окислительных организмов (растения, водоросли и цианобактерии) находятся пигмент-белковые комплексы фотосистемы I (ФС I) и фотосистемы II (ФС II), которые поглощают свет и передают энергию от светособирающих антенн к реакционным центрам [1–3]. В реакционных центрах ФС I и ФС II происходит разделение зарядов и иницируется перенос электронов от молекул воды, разлагаемых в ФС II ( $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+$ ), к молекуле  $\text{NADP}^+$ , восстанавливаемой до  $\text{NADPH}$ .

**Сокращения:** ФСА – фотосинтетический аппарат, ФС I – фотосистема I, ФС II – фотосистема II, ЦКБ – цикл Кальвина–Бенсона, НЭТ – нециклический электронный транспорт, Fd – ферредоксин, FNR – ферредоксин-NADP-редуктаза, ЦЭТ – циклический электронный транспорт, PQH<sub>2</sub> – пластохинол, Хл – хлорофилл, ЭПР – электронный парамагнитный резонанс.

Перенос электронов по цепи электронного транспорта сопряжен с образованием *транс*-мембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода ( $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ ). За счет энергии  $\Delta\mu_{\text{H}^+}$  в АТФ-синтазном комплексе ( $\text{CF}_0\text{--CF}_1$ ) образуются молекулы АТФ из ADP и неорганического фосфата (ортофосфат,  $\text{P}_i$ ). В строме хлоропластов (пространство между оболочкой хлоропласта и тилакоидами – замкнутыми мембранными везикулами, содержащими белковые комплексы ФСА), находятся ферменты цикла Кальвина–Бенсона (ЦКБ), катализирующие восстановление  $\text{CO}_2$  и образование углеводов за счет энергии молекул  $\text{NADPH}$  и АТФ [1–3].

**Цепь электронного транспорта хлоропластов.** Схема основных процессов фотосинтетического транспорта электронов в хлоропластах и регуляторных связей, обеспечивающих оптимизацию световых стадий фотосинтеза, показана на рис. 1. На этом рисунке обозначены следующие пути переноса электронов: 1) нециклический пе-



**Рис. 1.** Схема потоков электронов и протонов в хлоропластах и pH-зависимые механизмы регуляции электронного транспорта. Обозначения: ФС I и ФС II – фотосистема I и фотосистема II,  $b_6f$  – цитохромный комплекс, CET1 – циклический путь переноса электронов вокруг ФС I,  $CF_0-CF_1$  – АТФ-синтаза, Fd – ферредоксин, FNR – ферредоксин-NADP-редуктаза, NDH-1 – путь переноса электронов, катализируемый комплексом NDH-1, PQ и  $PQH_2$  – пластохинон и пластохинол, Pс – пластоцианин,  $Q_A$  и  $Q_B$  – молекулы первичного и вторичного пластохинона, восстанавливаемые за счет ФС II, ЦКБ – цикл Кальвина-Бенсона.

ренос электронов от ФС II к ФС I и далее к  $NADP^+$ ; 2) циклический перенос вокруг ФС I по цепи, включающей пластохинон; 3) псевдоциклический транспорт электронов с участием молекулярного кислорода ( $O_2$ ) в качестве акцептора электрона в ФС I. Оптимальное распределение электронных потоков по этим цепям играет важную роль в регуляции ФСА [4–11].

Нециклический электронный транспорт (НЭТ) обеспечивает образование восстановленных молекул  $NADPH$  за счет электронов, поступающих в цепь электронного транспорта от ФС II ( $H_2O \rightarrow \text{ФС II} \rightarrow PQ \rightarrow b_6f \rightarrow \text{ФС I} \rightarrow Fd \rightarrow NADP^+$ ). Цитохромный комплекс  $b_6f$  служит промежуточным звеном в цепи переноса электронов между ФС II и ФС I [5, 12–16]. Мобильным акцептором электрона, донируемого ФС I, является ферредоксин (Fd). От восстановленного ферредоксина ( $Fd^-$ ) электроны могут поступать в разные цепи. Два электрона от двух молекул  $Fd^-$  переносятся на молекулу  $NADP^+$  через ферредоксин-NADP-редуктазу (FNR). Дважды восстановленная молекула  $NADP^-$  протонируется за счет ионов водорода, поступающих из стромы ( $NADP^- + H^+ \rightarrow NADPH$ ). Защелачивание стромы (увеличение  $pH_{out}$ ) способствует активации ферментов ЦКБ, ускоряя потребление  $NADPH$  и АТФ.

При циклическом электронном транспорте (ЦЭТ) вокруг ФС I (рис. 1, разные пути ЦЭТ

символически обозначены как CET1 и NDH-1) электроны от восстановленных молекул  $Fd^-$  возвращаются в цепь переноса электронов на участке между ФС II и ФС I, включающим пластохиноновый пул  $PQ/PQH_2$  [9–16]. От пластохинола ( $PQH_2$ ) электроны поступают через цитохромный комплекс  $b_6f$  и пластоцианин к окисленным центрам  $P_{700}^+$ . В ЦЭТ вокруг ФС I, обозначенным на рис. 1 как CET1, непосредственную роль играют связанные с комплексом  $b_6f$  белки PGR5 и PGRL1, катализирующие восстановление пластохинона ( $PQ \rightarrow PQH_2$ ) [10]. Второй путь ЦЭТ вокруг ФС I – перенос электронов от  $Fd^-$  к PQ через комплекс NDH-1, являющийся гомологом митохондриального комплекса I [11].

Альтернативное направление оттока электронов от ФС I – перенос электрона на молекулу  $O_2$  (реакция Мелера [17–19]). Появляющиеся в результате этой реакции супероксидные радикалы ( $O_2^{\bullet-}$ ) дисмутируют с образованием пероксида водорода ( $H_2O_2$ ) и молекулярного кислорода ( $2 O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ); молекулы  $H_2O_2$  разлагаются каталазой до  $O_2$  и воды. В итоге электроны от воды, окисляемой в ФС II, переносятся к молекулярному кислороду  $O_2$ ; конечным продуктом этого цикла оказывается молекула воды (псевдоциклический транспорт электронов, цикл «вода–вода»:  $H_2O \rightarrow \text{ФС II} \rightarrow \text{ФС I} \rightarrow O_2 \rightarrow H_2O$  [17, 18]).

По разным источникам вклад цикла «вода—вода» может составлять от 10 до 60% от нециклического потока электронов [17–19]. Циклический и псевдоциклический пути переноса электронов не связаны с потреблением NADPH в ЦКБ, но сопряжены с переносом протонов в люмен, что способствует работе АТР-синтазы и образованию АТР.

**Регуляция фотосинтетического транспорта электронов.** Условия произрастания растения изменчивы (флуктуации температуры, варьирование интенсивности и спектрального состава света, условий питания и газового состава атмосферы). У фотосинтезирующих организмов оксигенного типа оптимизация работы ФСА обеспечивается за счет сравнительно быстрых (секунды—минуты) и медленных (часы—сутки) механизмов регуляции фотосинтетических процессов [20–22]. Быстрые процессы регуляции обусловлены активацией/деактивацией ферментов ЦКБ, перераспределением энергии поглощаемого света между ФС I и ФС II в результате миграции мобильных светособирающих комплексов и уменьшения активности ФС II при избытке освещения [23]. Ключевую роль в регуляции этих процессов играют изменения рН люмена (внутритилакоидного объема,  $pH_{in}$ ) и рН стромы ( $pH_{out}$ ), которые влияют на активность ФС II [24, 25], скорость переноса электронов между ФС II и ФС I [26–29] и активацию ЦКБ [1]. Медленные механизмы регуляции фотосинтетических процессов связаны с изменениями экспрессии белков ФСА [30–35]. Кроме этого, хлоропласты могут изменять свое положение в клетках растений, приближаясь к поверхности клетки для более эффективного поглощения света или удаляясь от поверхности клетки, что позволяет избежать повреждений ФСА при избытке света [36, 37]. Адаптация ФСА к условиям освещения способствует повышению светосбора при слабой освещенности и защите ФСА от избыточного освещения на сильном свете.

У растений ФСА зависит от условий их произрастания; ФСА чувствителен к флуктуациям освещения и температуры [38, 39]. Одним из факторов, определяющих эффективное функционирование хлоропластов при варьировании температуры, является регулирование микровязкости липидного бислоя тилакоидной мембраны [40–42]. Структурно-функциональные свойства ФСА растений зависят от вида и рода растений, произрастающих в определенной климатической зоне. Сравнение фотосинтетических свойств родственных видов растений позволяет выявить различия, проявляющиеся при выращивании (при «акклимации») растений. В то же время растения одного рода могут проявлять сходные свойства, приобретенные ими в ходе биологической эволюции (процесс «адаптации» растений). В этой связи не-

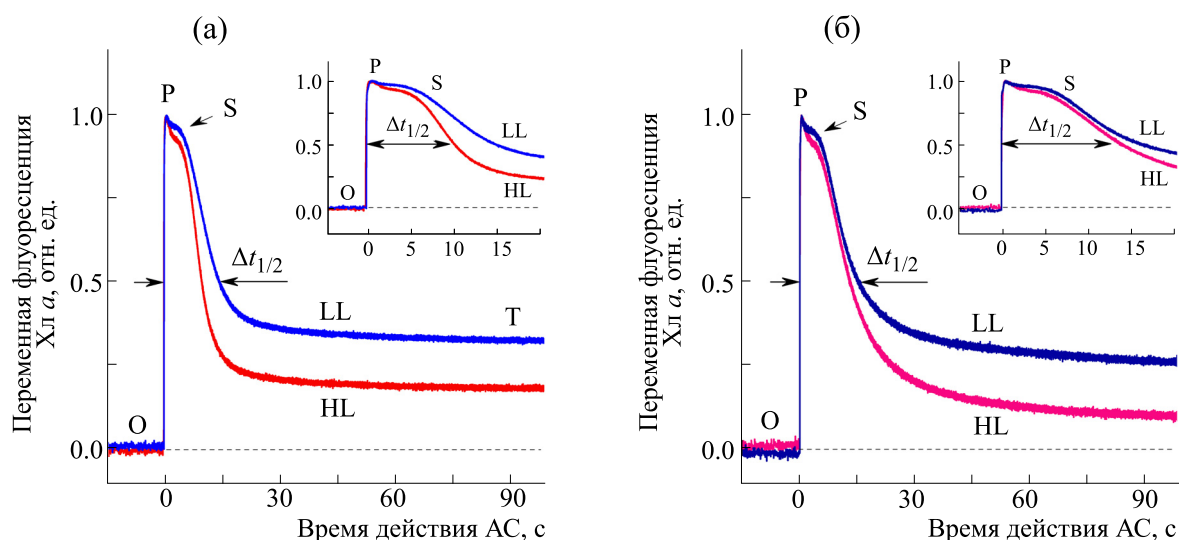
сомненный интерес представляют сравнительные исследования фотосинтетических свойств «контрастных» видов и экотипов растений одного рода, которые в ходе биологической эволюции адаптировались к условиям обитания в климатических зонах с разными условиями освещения. Такими родственными видами могут служить, например, теневыносливые или светолюбивые виды растений, произрастающие в районах с умеренной или высокой освещенностью (например, теневыносливые или светолюбивые виды традесканций [43–45], растения рода *Cucumis* — *C. sativus* (огурец) и *C. melo* (дыня) [41, 46]).

В настоящей работе описаны результаты исследования индукционных процессов<sup>1</sup> в хлоропластах *in situ* в листьях двух видов традесканции (теневыносливый вид *T. fluminensis* и светолюбивый вид *T. sillamontana*), выращенных в лабораторных условиях при высокой или низкой (умеренной) интенсивности света. Нами были изучены редокс-превращения реакционного центра ФС I ( $P_{700}$ ) и фотоиндуцированные изменения выхода флуоресценции хлорофилла (Хл) *a*. Показано, что растения, выращенные при высокой интенсивности света, характеризуются более быстрыми процессами фотоиндуцированного окисления  $P_{700}$  и затухания флуоресценции Хл *a* по сравнению с растениями, выращенными при низкой (умеренной) интенсивности света. Эти наблюдения отражают способность ФСА растений, акклиматизированных к сильному свету, быстрее реагировать на флуктуации интенсивности света.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Растения.** Объектами исследования служили листья двух видов традесканции (*T. fluminensis* и *T. sillamontana*), проростки которых были получены из Главного ботанического сада РАН (Москва). Растения выращивали в почвенной культуре при комнатной температуре (24–26°C) и относительной влажности 40–60% согласно

<sup>1</sup> Общепринятым термином «индукционные явления» [1, 47–49] мы называем фотосинтетические процессы (например, немономонные изменения интенсивности флуоресценции или многофазную кинетику редокс-превращений  $P_{700}$ ), которые происходят в листьях, выдержанных в определенных условиях (предварительное освещение и адаптация к темноте) непосредственно перед началом измерений. Когда мы говорим о лабораторных растениях, выращенных при том или ином освещении, мы используем термин «акклимация» растений. Подчеркнем, что термин «акклимация» не следует путать с термином «адаптация» образца, означая, что непосредственно перед измерениями фотосинтетических показателей листьев (см. рис. 2–5) мы стандартизируем состояние исследуемого образца, взятого из растения, выращенного при том или ином освещении; например, мы выдерживаем («адаптируем») образец определенное время в темноте перед началом измерения.



**Рис. 2.** Типичные кинетики светоиндуцированных изменений выхода флуоресценции Хл *a* (индукционные кривые) в листьях растений *T. fluminensis* (а) и *T. sillamontana* (б), выращенных при высокой (HL) или умеренной (низкой, LL) интенсивности света. Перед началом измерений образцы для стандартизации освещали в течение 2 минут актиничным светом ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм), поток которого составлял  $1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , а затем в течение 10 мин адаптировали к темноте. Представленные кривые переменной флуоресценции нормированы на максимальную интенсивность сигнала, отмеченную символом Р.

протоколу, описанному ранее [43, 44, 46]. Длительность светового периода в дневное время составляла 12 ч. Потоки света составляли  $800$ – $1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  («сильный» свет, который для краткости обозначен как HL, high light) или  $50$ – $125$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  («слабый» свет, обозначаемый как LL, low light). Растения, акклиматизированные к сильному или слабому свету, мы будем для краткости называть «HL-растениями» или «LL-растениями», соответственно.

Для измерений фотосинтетических показателей листьев использовали второй или третий зрелый лист, расположенный в верхней части побега. При измерениях характеристик листа с помощью ЭПР и оптических методов образец освещали с дорзальной стороны листа, обращенной в сторону верхнего эпидермиса. Общие закономерности кинетики изменений указанных выше биофизических показателей листьев *T. fluminensis* и *T. sillamontana*, изученные в разные сезоны, были одинаковыми. Для иллюстрации этих закономерностей мы приводим ниже результаты наших исследований, проведенных в 2021–2022 гг.

**Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР).** По величине характерного сигнала ЭПР от окисленных центров  $\text{P}_{700}^+$  (рис. 5а) удобно следить за функционированием ЭТЦ хлоропластов в клетках растений *in situ* [50, 51]. Образец (кусочек листа размерами  $4 \times 25$  мм) помещали в хорошо вентилируемый держатель, который закрепляли в

прямоугольном резонаторе ЭПР-спектрометра модели Е-4 (Varian, США). Мощность микроволнового излучения составляла 10 мВт, амплитуда ВЧ-модуляции была равна 0.4 мТл. Образцы освещали белым светом ( $320 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$ ), эффективно возбуждающим ФС I и ФС II, или дальним красным светом с  $\lambda_{\text{макс}} = 707$  нм ( $\Delta\lambda_{1/2} = 5$  нм) интенсивностью  $8 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$ , возбуждающим преимущественно ФС I. За кинетикой редокс-превращений  $\text{P}_{700}$  следили по величине низкополевого экстремума первой производной сигнала ЭПР от  $\text{P}_{700}^+$  (рис. 5а). Условия освещения и особенности регистрации сигнала ЭПР подробно описаны в наших работах [44–46, 50, 51].

**Оптические измерения редокс-превращений  $\text{P}_{700}$ .** Наряду с техникой ЭПР-спектроскопии для регистрации  $\text{P}_{700}^+$  мы использовали спектрометр DUAL-PAM-100 (Walz, Германия), который позволяет диагностировать одновременно состояние  $\text{P}_{700}$  и изучать индукцию флуоресценции Хл *a*. Об окислении  $\text{P}_{700}$  судили по изменениям разности поглощения света при 870 и 830 нм (DUAL-PAM-100 DUAL-PAM/F MANUAL, Heinz Walz GmbH [52–54]). Образец (кусочек листа или непосредственно сам лист) помещали в держатель прибора между блоками DUAL-DB и DUAL-E. В качестве «актиничного» (действующего) света, возбуждающего обе фотосистемы (ФС I и ФС II), использовали создаваемый светодиодом красный свет с длиной волны

$\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм. Поток красного света составлял  $1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Интенсивность слабого измерительного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм) была равна  $9$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Для преимущественного возбуждения ФС I и определения максимального уровня окисленных центров  $P_{700}^{+}$  использовали дальний красный свет от светодиода с  $\lambda_{\text{макс}} = 720$  нм, поток квантов дальнего красного света был равен  $500$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Протоколы кинетических измерений приведены в подписях к соответствующим рисункам.

**Кинетика медленной индукции флуоресценции Хл *a*.** Кинетику изменений выхода флуоресценции Хл *a* в листьях (эффект Каутского [47–49]) измеряли с помощью спектрометра DUAL-PAM-100, длина волны измерительного света  $\lambda_{\text{макс}} = 460$  нм. Методика этих измерений была подробно описана нами ранее [43–46]. Перед началом измерений образец адаптировали к актиничному свету (2 минуты), поток которого составлял  $1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ; затем образец выдерживали в темноте в течение 10 мин. После этого измеряли кинетику индукции флуоресценции Хл *a* по следующему протоколу: освещение 4 мин красным светом, затем, после темновой паузы (1 минута), включали дальний красный свет на 10 с и подавали насыщающий импульс света длительностью 300 мс. После выключения насыщающего импульса света и дальнего красного света образец находился в темноте в течении 10 мин. Поток дальнего красного света составлял  $500$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Поток измерительного света был равен  $9$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

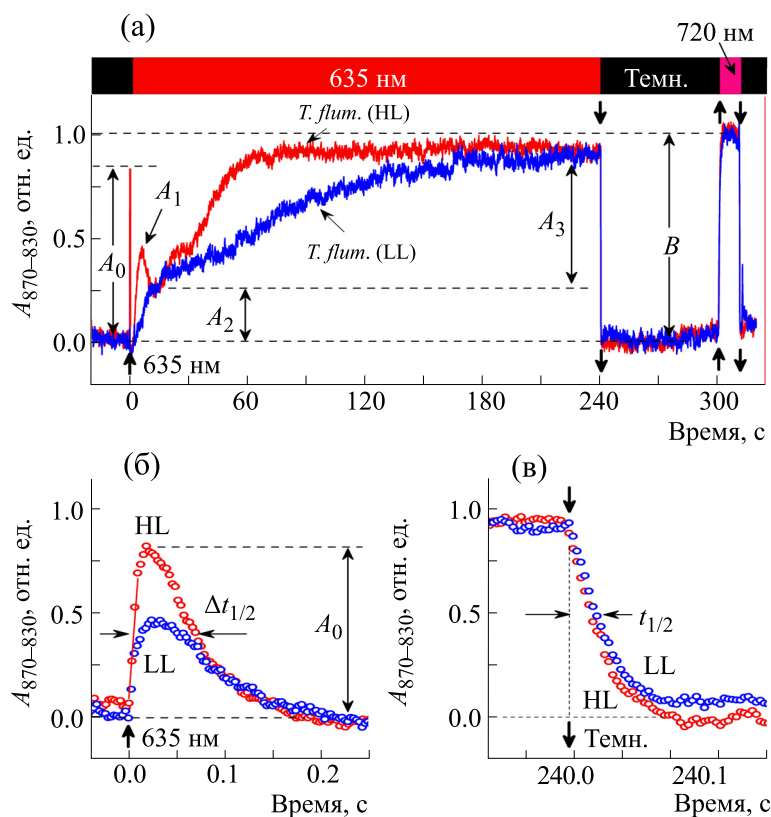
**Кинетика медленной индукции флуоресценции Хл *a*.** На рис. 2 приведены кинетики фотоиндуцированных изменений интенсивности флуоресценции Хл *a* в листьях растений *T. fluminensis* (теневыносливый вид) и *T. sillamontana* (светолюбивый вид), выращенных при высокой (HL) или низкой (умеренной) интенсивности света (LL). Представленные на этом рисунке кривые – суть изменения интенсивности флуоресценции («переменная» флуоресценция  $\Delta F = F(t) - F_0$ ), отсчитываемой от исходного уровня  $F_0$  (отмечен символом «О»), измеряемого до включения красного актиничного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм). Исходный уровень флуоресценции  $F_0$ , измеряемой до включения непрерывного актиничного света, составлял 20% от максимальной интенсивности флуоресценции, измеряемой при действии короткой насыщающей вспышки. Все показанные на рис. 2

индукционные кривые нормированы на максимальную амплитуду переменной флуоресценции (величина О-Р).

Из рис. 2 видно, что в ответ на включение актиничного света сначала наблюдается быстрый рост интенсивности флуоресценции Хл *a* до уровня Р (время достижения максимального уровня Р не превышало  $\approx 0.5$  с). Кинетика быстрой фазы роста флуоресценции (О-Р) в листьях *T. fluminensis* и *T. sillamontana*, адаптированных к темноте в течение 10 мин, называемая кинетикой быстрой индукции флуоресценции, была подробно изучена нами ранее [44]. Было обнаружено, что у теневыносливого вида *T. fluminensis* кривые быстрой индукции флуоресценции (традиционно обозначаемые как О-J-I-Р) в листьях растений, акклиматизированных к сильному и слабому свету, заметно различались; в то же время, в листьях светолюбивого растения *T. sillamontana* заметного различия кривых О-J-I-Р для LL- и HL-листьев не наблюдалось (данные не приведены, см. работу [44]).

Различия между LL- и HL-растениями четко проявляются при измерениях медленной индукции флуоресценции (кривая Каутского [47–49]) в листьях, адаптированных к темноте. Видно, что после быстрого достижения максимального уровня Р (участок кривой О-Р) происходит сравнительно медленное уменьшение интенсивности флуоресценции (кривая Р-S-T). После небольшой начальной фазы спада (Р-S) наблюдается значительное уменьшение интенсивности флуоресценции до стационарного уровня Т (рис. 2а). В листьях обоих видов традесканции, конечные уровни флуоресценции у растений, акклиматизированных к сильному и слабому свету, заметно различались. Спад флуоресценции был выше у растений, адаптированных к сильному свету (HL-растения). Вероятно, это обусловлено тем, что у HL-традесканций в большей степени проявляется индуцированное светом нефотохимическое тушение, ослабляющее выход флуоресценции [44, 54–56]. Нельзя также исключить влияние морфологических различий в листьях, акклиматизированных к свету различной интенсивности: у HL-растений увеличивается толщина листа, изменяются размеры клеток и их локализация в листе [57]. Следствием морфологических изменений листьев растений могут быть оптические эффекты, например, ослабление интенсивности света, проникающего вглубь листа, и усиление реабсорбции испускаемого света.

Мы также наблюдали различия в скоростях спада интенсивности флуоресценции в листьях растений, выращенных при разных интенсивностях света. В листьях *T. fluminensis*, акклиматизированных к слабому (LL) или сильному (HL) свету, характерные времена спада флуоресценции,



**Рис. 3.** (а) — Типичные кинетики фотоиндуцированных изменений оптического сигнала  $A_{870-830}$  в листьях растений *T. fluminensis*, выращенных при высокой (HL) или умеренной (низкой, LL) интенсивности света. Перед началом измерений образцы для стандартизации освещали в течение 2 мин. актиничным светом ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм), поток которого составлял  $1000 \text{ мкмоль фотонов м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , а затем в течение 10 минут адаптировали к темноте. Кинетические кривые нормированы по амплитуде на величину сигнала от  $P_{700}^+$ , индуцируемого дальним красным светом ( $\lambda_{\text{макс}} = 720$  нм), возбуждающим преимущественно ФС I. (б) — Быстрый рост сигнала  $A_{870-830}$  (фаза  $A_0$ ). (в) — Кинетика спада сигнала от  $P_{700}^+$  в темноте (после выключения красного света).

определяемые по уменьшению на 50% интенсивности свечения от экстремума «Р» до начального уровня «О», составляли  $\Delta t_{1/2}(\text{HL}) \approx 10 \pm 2$  и  $\Delta t_{1/2}(\text{LL}) \approx 15 \pm 2$  с соответственно (рис. 2а)<sup>2</sup>. Это означает, что у растений, акклимизированных к сильному свету, хлоропласты быстрее достигают нового стационарного состояния при освещении, чем у растений, выращенных на слабом свету.

У светолюбивого вида *T. sillamontana* также наблюдалось различие в скоростях спада флуоресценции у растений, акклимизированных к слабому или сильному свету (рис. 2б), но это различие было не столь значительным, как в листьях теневыносливого вида *T. fluminensis* (рис. 2а). В листьях

*T. sillamontana* характерные времена спада индукционных кривых составляли  $\Delta t_{1/2}(\text{HL}) \approx 13 \pm 2$  и  $\Delta t_{1/2}(\text{LL}) \approx 15 \pm 2$  с.

**Кинетика редокс-превращений  $P_{700}$  (оптические измерения).** Описанные выше особенности медленной индукции флуоресценции в листьях LL- и HL-растений проявляются в кинетике фотоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$ . На рис. 3а приведены кривые изменений концентрации  $P_{700}^+$  в адаптированных к темноте (10 мин) листьях *T. fluminensis*, происходящие при действии света различного спектрального состава. О редокс-превращениях  $P_{700}$  судили по разности поглощения света при 870 нм (референтная длина волны, принимаемая за точку отсчета) и 830 нм (длина волны, при которой происходит уменьшение поглощения света, связанное с окислением  $P_{700}$ ). Эту разность мы будем называть для краткости сигналом « $A_{870-830}$ ». Из рис. 3а видно, что у

<sup>2</sup> Приведенные значения параметра  $\Delta t_{1/2}$  и указанные погрешности относятся к первому включению актиничного света после предварительного освещения листа и его адаптации к темноте в течении 10 мин. Последующие циклы измерений, выполненные после повторения процедуры адаптации на том же образце, давали уменьшающиеся значения параметра  $\Delta t_{1/2}$ .

ответ на включение красного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 635 \text{ нм}$ ), возбуждающего обе фотосистемы, наблюдаются многофазные изменения сигнала  $A_{870-830}$ , приписываемого окисленной форме реакционного центра  $P_{700}^+$ . Сразу после включения красного света наблюдается быстрый рост сигнала  $A_{870-830}$  (рис. 3б, фаза  $A_0$ ), который затем сменяется спадом сигнала  $A_{870-830}$  (восстановление  $P_{700}^+$ ), обусловленным быстрым притоком электронов к  $P_{700}^+$ . Восстановление  $P_{700}^+$  объясняется тем, что на начальной стадии освещения хлоропластов отток электронов от ФС I в ЦКБ лимитирован за счет низкой активности FNR и ферментов ЦКБ; в то же время сохраняется приток электронов в пластохиноновый пул от активно функционирующей ФС II и за счет ЦЭТ вокруг ФС I. Можно было бы предположить, что спад  $P_{700}^+$  на стадии  $A_0$  обусловлен не притоком электронов к  $P_{700}^+$  от  $PQH_2$ , а рекомбинацией зарядов в ФС I. Мы полагаем, однако, что фаза  $A_0$  не связана непосредственно с рекомбинацией зарядов<sup>3</sup>.

В листьях *T. fluminensis*, акклиматизированных к сильному свету, видны следующие стадии монотонных изменений сигнала  $A_{870-830}$  (фаза  $A_1$ ), которая, однако, отсутствовала в листьях растений, акклиматизированных к слабому свету. Причина такого различия пока остается невыясненной. Можно предположить, что это обусловлено неодинаковым содержанием электрон-транспортных комплексов и разным соотношением альтернативных потоков электронов (НЭТ и ЦЭТ) в хлоропластах HL- и LL-растений и/или разными начальными концентрациями окисленного Fd. Известно, например, что у HL-растений увеличивается вклад ЦЭТ по отношению к НЭТ [58, 59]. На начальных стадиях освещения адаптированных к темноте хлоропластов, когда функционирование ЦКБ лимитирует отток электронов от ФС I, функционирование ЦЭТ может обеспечивать отток электронов от ФС I, что будет способствовать окислению  $P_{700}$ . При этом возрастает доля восстановленных молекул пластохинонового пула ( $PQH_2$ ), что может увеличивать

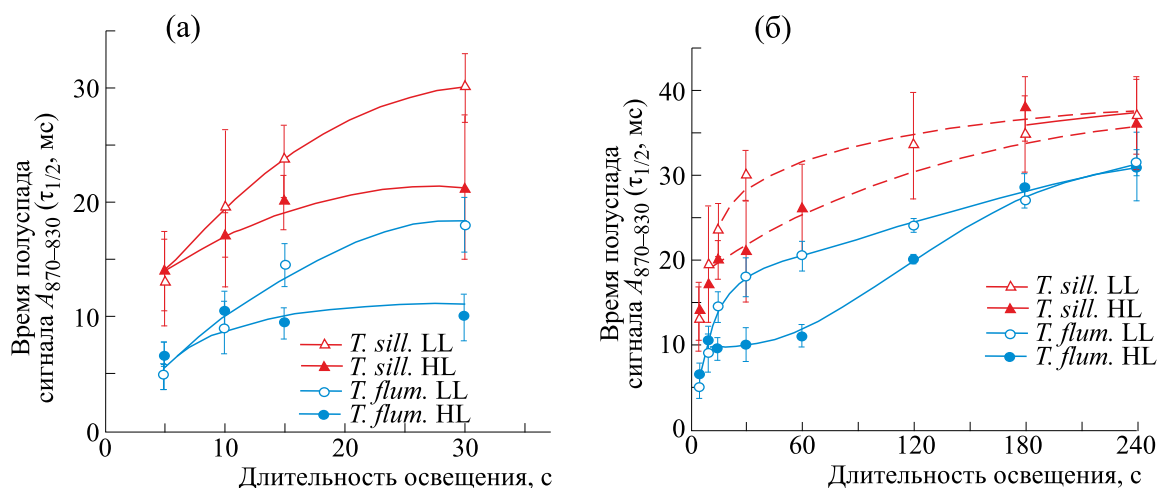
НЭТ за счет ускорения притока электронов от  $PQH_2$  к  $P_{700}^+$  [60].

Следует иметь в виду и другие возможные причины появления/отсутствия фазы  $A_1$ . Нельзя исключить того, что определенный вклад в изменения оптического сигнала  $A_{870-830}$  могут вносить изменения спектра поглощения листьев за счет редокс-превращений других переносчиков (например, восстановление/окисление Fd и/или пластоцианина [52]). Согласно работе [52], восстановление Fd может сопровождаться небольшими изменениями сигнала  $A_{870-830}$ , но в направлении, противоположном тому, которое соответствует окислению  $P_{700}$ . По нашим наблюдениям, такого рода искажения сигнала  $A_{870-830}$  чаще всего встречаются в HL-листьях *T. sillamontana* (данные не приведены, этому будет посвящена наша специальная публикация).

По мере дальнейшего освещения листьев красным светом после короткой лаг-фазы происходит монотонный рост сигнала  $A_{870-830}$  к стационарному уровню (рис. 3, стадии  $A_2$  и  $A_3$ ). Увеличение сигнала на стадиях  $A_2$  и  $A_3$  может быть обусловлено pH-зависимой регуляцией электронного транспорта: а) замедлением окисления  $PQH_2$  цитохромным комплексом  $b_6f$  [26–28] и ослаблением активности ФС II [24, 25] вследствие закисления люмена (уменьшение  $pH_{\text{in}}$ ), и б) ускорением оттока электронов от ФС I в результате активации ЦКБ при увеличении  $pH_{\text{out}}$  [1]. Отметим, что, подобно кривым медленной индукции флуоресценции (рис. 2), в листьях, акклиматизированных к сильному свету, наблюдалось более быстрое достижение стационарного уровня сигнала  $A_{870-830}$ , в отличие от растений, акклиматизированных к слабому свету. Это означает, что растения, произрастающие на сильном свету, приобрели способность быстрее реагировать на изменения интенсивности света.

Естественно предположить, что описанные выше различия в кинетике фотоокисления  $P_{700}$  обусловлены разной стехиометрией электрон-транспортных комплексов в хлоропластах HL- и LL-растений. Акклиматизация традесканций к сильному свету стимулирует экспрессию белка PsbS, ответственного за усиление нефотохимического тушения (НФТ) возбуждения Хл *a* в ФС II [29, 30]. Ранее нами было показано, что в листьях светолюбивого вида *T. sillamontana*, отношение  $PsbS/P_{700}$  почти в два раза выше ( $\approx 1.7$ – $1.8$ ), чем в листьях теневыносливого растения *T. fluminensis*, выращенного при тех же самых условиях [54]. При этом у HL-растений увеличивается содержание каротиноидов, ответственных за защиту ФСА от светового стресса [55].

<sup>3</sup> Можно было бы предположить, что спад  $P_{700}^+$  на стадии  $A_0$  обусловлен рекомбинацией зарядов в ФС I (см. обсуждение этого вопроса в работе [4]). Однако, сравнивая кинетику спада сигнала  $A_{870-830}$  на стадии  $A_0$  ( $\Delta t_{1/2} \approx 60$ – $70$  мс, рис. 3б) с литературными данными о рекомбинации зарядов в ФС I в листьях *Arabidopsis thaliana* (предположительно это реакция  $Fx^-P_{700}^+ \rightarrow Fx P_{700}$ ,  $t_{1/2} \sim 60$  мкс [4]), мы полагаем, что этот процесс не связан непосредственно с быстрой рекомбинацией зарядов в реакционных центрах ФС I.



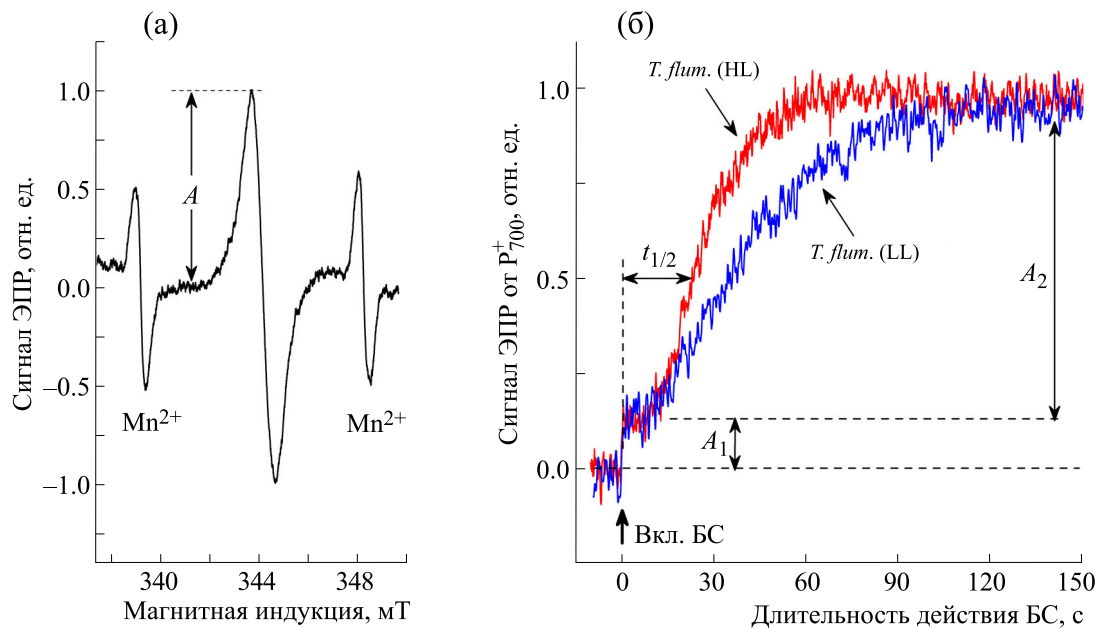
**Рис. 4.** (а) — Зависимости параметра  $\tau_{1/2}$  от длительности действия красного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм) в листьях, адаптированных к темноте в течение 10 мин. Перед началом измерений образцы для стандартизации освещали в течение 2 мин красным светом ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм), поток которого составлял  $1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , затем в течение 10 мин адаптировали к темноте. Величины стандартного отклонения определены по результатам 4–5 измерений. (б) — После достаточно продолжительного действия красного света ( $\geq 3$  минут) параметры  $\tau_{1/2}$ , измеряемые у LL- и HL-растений, совпадают.

Акклимация растений к сильному свету может стимулировать рост относительного содержания ферментов ЦКБ [59–62]. Ключевым белком-переносчиком электрона, экспрессия которого чувствительна к вариациям условий роста растений, является ферредоксин (см. обзор [16]). От восстановленного Fd идет разветвление потоков электронов по разным цепям (НЭТ, ЦЭТ, цикл «вода-вода» [60]). Как показал теоретический анализ кинетики фотоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$ , амплитуда начальной фазы окисления  $P_{700}$  возрастает при увеличении относительной концентрации Fd (см. описание модели в работе [51]). Влияние неблагоприятных факторов (например, действие активных форм кислорода), вызывает уменьшение относительного содержания Fd, что приводит к ослаблению НЭТ и усилению оттока электронов от ФС I к  $O_2$ .

После выключения красного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм), возбуждающего обе фотосистемы, сигнал  $A_{870-830}$  быстро спадает (рис. 3в) за счет притока электронов к  $P_{700}^+$  от восстановленных доноров, находящихся в ЦЭТ между ФС II и ФС I ( $\text{PQH}_2 \rightarrow b_6f \rightarrow \text{пластоцианин} \rightarrow P_{700}^+$ ). Анализ кинетики спада сигнала от  $P_{700}^+$  в темноте (рис. 3в) показал, что этот процесс подчиняется экспоненциальной зависимости. Основным источником электронов для восстановления  $P_{700}^+$  в темноте служит пул восстановленных молекул пластохинола ( $\text{PQH}_2$ ). Скорость окисления  $\text{PQH}_2$ , как известно [15, 26–28], контролируется

внутритилакоидным  $\text{pH}_{\text{in}}$ . С понижением  $\text{pH}_{\text{in}}$  окисление  $\text{PQH}_2$  замедляется, что приводит к уменьшению скорости восстановления  $P_{700}^+$ , о чем можно судить по увеличению времени восстановления  $P_{700}^+$  в темноте (параметр  $\tau_{1/2}$ ), наблюдаемому с ростом длительности экспозиции листьев на красном свете (рис. 4). Включение дальнего красного света ( $\lambda_{\text{макс}} = 720$  нм), возбуждающего преимущественно ФС I, вызывает быстрое ре-окисление  $P_{700}$  (рис. 3а).

На рис. 4 показаны зависимости параметра  $\tau_{1/2}$  от времени освещения красным светом листьев, адаптированных к темноте. После кратковременной экспозиции листьев *T. fluminensis*, время восстановления 50 % центров  $P_{700}^+$  составляло  $\tau_{1/2} \approx 5$  мс; в листьях *T. sillamontana* этот параметр был равен  $\tau_{1/2} \approx 12$ –13 мс. По мере увеличения длительности экспозиции скорость восстановления  $P_{700}^+$  в темноте уменьшается (параметр  $\tau_{1/2}$  возрастает). После достаточно длительного освещения листьев (~2–3 минуты) характерные времена восстановления  $P_{700}^+$  в темноте достигали  $\tau_{1/2} \sim 30$ –35 мс (рис. 4). Рост параметра  $\tau_{1/2}$  отражает замедление окисления  $\text{PQH}_2$  цитохромным комплексом, что может происходить по следующим причинам: а) закисление люмена в результате понижения  $\text{pH}_{\text{in}}$ , вызывающее замедление окисления  $\text{PQH}_2$ ; б) активация ЦКБ в результате роста  $\text{pH}_{\text{out}}$ ; в) перераспределение



**Рис. 5.** (а) — В центре показан сигнал ЭПР в освещаемом белым светом листе *T. fluminensis* (HL-образец), величина которого пропорциональна концентрации  $P_{700}^+$ ; два референтных сигнала, помеченные как  $Mn^{2+}$ , принадлежат 3-й и 4-й компонентам сверхтонкой структуры иона  $Mn^{2+}$  в решетке  $MgO$  образца, используемого в качестве стандарта. (б) — Кинетика роста низкополевой компоненты сигнала ЭПР, принадлежащего центрам  $P_{700}^+$ , в листьях растений *T. fluminensis*, выращенных при слабом (LL) или сильном (HL) освещении. Перед началом измерений образцы для стандартизации освещали в течение 2 мин красным светом ( $\lambda_{\text{макс}} = 635$  нм), поток которого составлял  $1000$  мкмоль фотонов  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , а затем в течение 10 минут образец адаптировали к темноте. Показанные на рис. 5б кинетические кривые нормированы на максимальные величины сигналов.

потоков электронов на акцепторном участке цепи (ослабление ЦЭТ в пользу НЭТ). В результате уменьшения притока электронов от ФС II к RQ (из-за светоиндуцированного усиления НФТ падает активность ФС II) и ускорения оттока электронов от  $RQH_2$  к ФС I со временем также падает относительная концентрация  $RQH_2$ . Экспериментальные доказательства того, что процент восстановленных молекул пластохинонового пула (концентрация  $[RQH_2]$ ) изменяется немонотонно в ходе освещения листьев красным (или белым) светом, были представлены нами ранее [51]. В итоге, в результате фотоиндуцированного закисления люмена ( $pH_{\text{in}}^{\downarrow}$ ) и уменьшения концентрации  $[RQH_2]$  поток электронов к  $P_{700}^+$  уменьшается, что проявляется как рост параметра  $\tau_{1/2}$  по мере освещения листьев (рис. 4).

Подчеркнем, что в листьях растения *T. fluminensis*, акклимизированного к слабому свету (LL-традесканция), увеличение параметра  $\tau_{1/2}$  с ростом длительности действия красного света происходило быстрее, чем у растений, произрастающих на сильном свету (HL-растения). Мы полагаем, что это служит проявлением того, что у HL-традесканций возрастает вклад ЦЭТ вокруг ФС I, спо-

собствующий ускорению притока электронов к  $P_{700}^+$  [51, 54, 57]. Отток электронов от ФС I в ЦКБ ускоряется по мере освещения хлоропластов в результате активации FNR и ферментов ЦКБ [1]. После достаточно продолжительного действия красного света ( $\geq 3$  мин), когда ЦКБ функционирует активно, параметры  $\tau_{1/2}$ , измеряемые у LL- и HL-растений, совпадают (рис. 4б).

**Кинетика фотоиндуцированного окисления  $P_{700}$  (по данным ЭПР измерений).** Описанная выше закономерность — более быстрое окисление  $P_{700}$  в листьях *T. fluminensis* у HL-растений — наблюдалась также при измерениях кинетики фотоиндуцированного окисления  $P_{700}$  методом ЭПР. Важным преимуществом техники ЭПР-спектроскопии является то, что сигнал ЭПР от  $P_{700}^+$  свободен от примеси сигналов от ферредоксина и пластоцианина, у которых спектры ЭПР не наблюдаются при комнатных температурах [50]. Из рис. 5 видно, что в ответ на включение белого света, эффективно возбуждающего обе фотосистемы, кинетика окисления  $P_{700}$  характеризуется двумя фазами: после сравнительно быстрого небольшого увеличения сигнала (стадия  $A_1$ ) его рост замедляется и в дальнейшем концентрация

$P_{700}^+$  сравнительно медленно достигает стационарного уровня (стадия  $A_2$ ). Методом ЭПР мы не наблюдали самую первую (быструю) фазу окисления  $P_{700}$  ( $A_0$ ), детектируемую по оптическому сигналу  $A_{870-830}$ . Техника ЭПР-спектроскопии не позволяет разрешать быстрые изменения  $P_{700}$ , детектируемые оптическими методами. Важно, однако, подчеркнуть, что кинетические данные для LL- и HL-растений, полученные методом ЭПР, отражают ту же закономерность, которую мы наблюдали для оптического сигнала  $A_{870-830}$ : скорость окисления  $P_{700}$  в хлоропластах HL-растений в полтора-два раза выше, чем у LL-растений. Это наглядно видно из рис. 5, на котором показаны кинетические кривые для листьев *T. fluminensis*. Аналогичная закономерность наблюдалась для LL- и HL-растений *T. sillamontana* (данные не приведены, см. подробнее работу [44]). Таким образом, оба метода регистрации  $P_{700}^+$  – оптическая и ЭПР-спектроскопия – приводят к одному и тому же выводу: у HL-растений, адаптированных к темноте, наблюдается более быстрое светоиндуцированное окисление  $P_{700}$ , чем у LL-растений.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование электрон-транспортных процессов в листьях двух «контрастных» видов традесканций (теневыносливый и светолюбивый виды) показало, что интенсивность освещения при выращивании растений заметно влияет на процессы фотосинтетического транспорта электронов. Изучая индукционные явления в адаптированных к темноте листьях методами оптической и ЭПР-спектроскопии, мы показали, что оба вида растений, акклиматизированных к высокой интенсивности света, характеризуются более быстрыми процессами окисления  $P_{700}$  и спада флуоресценции Хл *a* по сравнению с растениями, выращенными при низкой (умеренной) интенсивности света. Вся совокупность полученных нами данных свидетельствует, что такие процессы, как нефотохимическое тушение возбуждения Хл *a* и фотоиндуцированное ослабление активности ФС II, активация реакций цикла Кальвина–Бенсона и ускорение оттока электронов от ФС I в ЦКБ, в листьях HL-растений *T. fluminensis* протекают быстрее (приблизительно в полтора-два раза) по сравнению с листьями LL-растений. Полученные результаты объясняются в контексте «краткосрочных» механизмов регуляции электронного транспорта в хлоропластах: у теневыносливых растений *T. fluminensis*, акклиматизированных к сильному свету, ФСА быстрее реагирует на включение интенсивного света. У HL-растений быстрее активируются защитные меха-

низмы, позволяющие предотвращать повреждение ФСА при избыточном освещении, которые могут возникать в природных условиях в результате флуктуаций интенсивности солнечного освещения. Влияние интенсивности света при выращивании растений заметнее проявляется в динамике индукционных процессов у теневыносливого вида традесканций (*T. fluminensis*), чем у светолюбивого вида (*T. sillamontana*). Мы показали, что у растений вида *T. sillamontana*, которые приобрели в ходе эволюции способность расти и функционировать на сильном свете, «реактивность» ФСА (скорость достижения стационарного состояния при освещении сильным светом листьев, адаптированных к темноте) менее чувствительна к условиям акклиматизации растений по сравнению с тенелюбивым видом *T. fluminensis*.

### 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» (№ Государственной регистрации 012004 085 35) при финансовой и научно-технической поддержке фонда «Вольное дело» (приборное обеспечение, климатическая камера).

### 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.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Эдвардс Д. и Уокер Д., *Фотосинтез  $C_3$  и  $C_4$ -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. Joliot P., Béal D., and Joliot A. Cyclic electron flow under saturating excitation of dark-adapted Arabidopsis leaves. *Biochim. Biophys. Acta*, **1656** (2–3), 166–176 (2004). DOI: 10.1016/j.bbabi.2004.03.010
5. Dumas L., Chazaux M., Peltier G., Johnson X., and Alric J. Cytochrome  $b_6f$  function and localization, phosphorylation state of thylakoid membrane proteins and

- consequences on cyclic electron flow. *Photosynth. Res.*, **129**, 307–320 (2016). DOI: 10.1007/s11120-016-0298-y
6. Tikhonov A. N. The cytochrome *b<sub>6</sub>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
  7. Munekage Y., Hashimoto M., Miyake C., Tomizawa K., Endo T., Tasaka M., and Shikanai T. Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature*, **429**, 579–582 (2004). DOI: 10.1038/nature02598
  8. Breyton C., Nandha B., Johnson G. N., Joliot P., and Finazzi G. Redox modulation of cyclic electron flow around photosystem I in C3 plants. *Biochemistry*, **45** (45), 13465–13475 (2006). DOI: 10.1021/bi061439s
  9. 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 Acad. Press, Norfolk, UK, 2016), pp. 89–100. DOI: 10.21775/9781910190470
  10. 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
  11. Puthiyaveetil S., Kirchhoff H., and Huhner R. Structural and functional dynamics of the thylakoid membrane system. In: *Chloroplasts: Current Research and Future Trends*, Ed. by H. Kirchhoff (Caister Acad. Press, Norfolk, UK, 2016), pp. 59–87. DOI: 10.21775/9781910190470
  12. Malone L. A., Proctor M. S., Hitchcock A., Hunter C. N., and Johnson M. P. Cytochrome *b<sub>6</sub>f* – orchestrator of photosynthetic electron transfer. *Biochim. Biophys. Acta*, **1862** (5), 148380 (2021). DOI: 10.1016/j.bbabi.2021.148380
  13. Sarewicz M., Pintscher S., Pietras R., Borek A., Bujnowicz Ł., Hanke G., Cramer W. A., Finazzi G., and Osyczka A. Catalytic reactions and energy conservation in the cytochrome *bc<sub>1</sub>* and *b<sub>6</sub>f* complexes of energy-transducing membranes. *Chem. Rev.*, **121** (4), 2020–2108 (2021). DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00712
  14. Устынюк Л. Ю. и Тихонов А. Н. Окисление пластохинола – лимитирующая стадия в цепи переноса электронов в хлоропластах. *Биохимия*, **87** (10), 1372–1387 (2022). DOI: 10.31857/S0320972522100049
  15. Tikhonov A. N. The cytochrome *b<sub>6</sub>f* complex: Plastoquinol oxidation and regulation of electron transport in chloroplasts. *Photosynth. Res.*, **159**, 203–227 (2024). DOI: 10.1007/s11120-023-01034-w
  16. Тихонов А. Н. Электронный транспорт в хлоропластах: регуляция и альтернативные пути переноса электронов. *Биохимия*, **88** (10), 1742–1760 (2023). DOI: 10.31857/S0320972523100032
  17. Asada K. The water-water cycle in chloroplasts. Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.*, **50** (1), 601–639 (1999). DOI: 10.1146/annurev.arplant.50.1.601
  18. Balazadeh S., Jaspert N., Arif M., Mueller-Roeber B., and Maurino V. G. Expression of ROS-responsive genes and transcription factors after metabolic formation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in chloroplasts. *Front. Plant Sci.*, **3**, 234 (2012). DOI: 10.3389/fpls.2012.00234
  19. Kuvykin I. V., Vershubskii A. V., Ptushenko V. V., & Tikhonov A. N. Oxygen as an alternative electron acceptor in the photosynthetic electron transport chain of C3 plants. *Biochemistry (Moscow)*, **73** (10), 1063–1075 (2008). DOI: 10.1134/S0006297908100027
  20. Demmig-Adams B., Cohu C. M., Muller O., and Adams W. W. 3rd. 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
  21. 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
  22. Rochaix J.-D. Regulation of photosynthetic electron transport. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics*, **1807** (3), 375–383 (2011). DOI: 10.1016/j.bbabi.2010.11.010
  23. 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
  24. 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
  25. Li Z., Wakao S., Fischer B. B., and Niyogi K. K. Sensing and responding to excess light. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **60** (1), 239–260 (2009). DOI: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103844
  26. 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 intrathylakoid pH. *Biochim. Biophys. Acta*, **637** (2), 321–333 (1981). DOI: 10.1016/0005-2728(81)90171-7
  27. Takizawa K., Cruz J. A., Kanazawa A., and Kramer D. M. The thylakoid proton motive force *in vivo*. Quantitative, non-invasive probes, energetics, and regulatory consequences of light-induced *pmf*. *Biochim. Biophys. Acta*, **1767** (10), 1233–1244 (2007). DOI: 10.1016/j.bbabi.2007.07.006
  28. 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
  29. Fisher N., Bricker T. M., and Kramer D. M. Regulation of photosynthetic cyclic electron flow pathways by adenylate status in higher plant chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*,

- 1860** (11), 148081 (2019). DOI: 10.1016/j.bbabi.2019.148081
30. 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
  31. Lichtenthaler 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
  32. Lichtenthaler 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
  33. 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
  34. 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
  35. 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
  36. 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
  37. Davis P. A., Caylor S., Whippo C. W., and Hangarter R. P. Changes in leaf optical properties associated with light-dependent chloroplast movements. *Plant, Cell & Environment*, **34** (12), 2047–2059 (2011). DOI: 10.1111/j.1365-3040.2011.02402.x
  38. Tikkanen M., Grieco M., Nurmi M., Rantala M., Suorsa M., and Aro E.-M. Regulation of the photosynthetic apparatus under fluctuating growth light. *Phil. Trans. Roy. Soc. B: Biol. Sci.*, **367** (1608), 3486–3493 (2012). DOI: 10.1098/rstb.2012.0067
  39. 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
  40. Barber J., Ford R. C., Mitchell R. A. C., and Millner P. A. Chloroplast thylakoid membrane fluidity and its sensitivity to temperature. *Planta*, **161** (4), 375–380 (1984). DOI: 10.1007/BF00398729
  41. Лютова М.И., Тихонов А.Н. Сопоставление температурной зависимости подвижности липидо-растворимой спиновой метки в тилакоидных мембранах хлоропластов дыни и огурца. *Биофизика*, **33**, 460–464 (1988).
  42. 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
  43. Benkov M. A., Yatsenko A. M., and Tikhonov A. N. Light acclimation of shade-tolerant and sun-resistant *Tradescantia* species: photochemical activity of PSII and its sensitivity to heat treatment. *Photosynth. Res.*, **139** (1–3), 203–214 (2019). DOI: 10.1007/s11120-018-0535-7
  44. Сусличенко И.С., Беньков М.А., Ковалишина Д.А., Петрова М.О., Трубицин Б.В. и Тихонов А.Н. Электронный транспорт в мембранах хлоропластов теневыносливого и светолюбивого видов традесканции. *Биол. мембраны*, **40** (2), 92–104 (2023). DOI: 10.31857/S023347552302007X
  45. Kalmatskaya O. A., Karavaev V. A., and Tikhonov A. N. Slow induction of chlorophyll a fluorescence excited by blue and red light in *Tradescantia* leaves acclimated to high and low light. *Photosynth. Res.*, **142** (3), 265–282 (2019). DOI: 10.1007/s11120-019-00663-4
  46. Беньков М. А., Сусличенко И. С., Трубицин Б. В. и Тихонов А. Н. Влияние акклимации растений на электронный транспорт в мембранах хлоропластов *Cucumis sativus* и *Cucumis melo*. *Биол. мембраны*, **40** (3), 172–187 (2023). DOI: 10.31857/S0233475523030039
  47. 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).
  48. Lazár D. Chlorophyll a fluorescence induction. *Biochim. Biophys. Acta*, **1412** (1), 1–28 (1999). DOI: 10.1016/S0005-2728(99)00047-X
  49. Stirbet A., and Govindjee. 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
  50. 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
  51. 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
  52. Klughammer C. and Schreiber U. Deconvolution of ferredoxin, plastocyanin, and P<sub>700</sub> 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
  53. Ptushenko V. V., Zhigalova T. V., Avercheva O. V., and Tikhonov A. N. Three phases of energy-dependent induc-

- tion 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
54. Mishanin V. I., Trubitsin B. V., Benkov M. A., Minin A. A., and Tikhonov A. N. Light acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species: induction of chlorophyll *a* fluorescence and  $P_{700}$  photooxidation, expression of PsbS and Lhcb1 proteins. *Photosynth. Res.*, **130** (1–3), 275–291 (2016). DOI: 10.1007/s11120-016-0252-z
  55. Mishanin V. I., Trubitsin B. V., Patsaeva S. V., Ptushenko V. V., Solovchenko A. E., and Tikhonov A. N. Acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species to growth light: chlorophyll *a* fluorescence, electron transport, and xanthophyll content. *Photosynth. Res.*, **133** (1–3), 87–102 (2017). DOI: 10.1007/s11120-017-0339-1
  56. Kalmatskaya O. A., Trubitsin B. V., Suslichenko I. S., Karavaev V. A., and Tikhonov A. N. Electron transport in *Tradescantia* leaves acclimated to high and low light: thermoluminescence, PAM-fluorometry, and EPR studies. *Photosynth. Res.*, **146** (1–3), 123–141 (2020). DOI: 10.1007/s11120-020-00767-2
  57. Ptushenko V. V., Ptushenko O. S., Samoilova O. P., and Solovchenko A. E. An exceptional irradiance-induced decrease of light trapping in two *Tradescantia* species: an unexpected relationship with the leaf architecture and zeaxanthin-mediated photoprotection. *Biol. Plantarum*, **60** (2), 385–393 (2016). DOI: 10.1007/s10535-016-0593-7
  58. Kanervo E., Suorsa M., and Aro E.-M. Functional flexibility and acclimation of the thylakoid membrane. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **4** (12), 1072–1080 (2005). DOI: 10.1039/b507866k
  59. 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
  60. Yamori W. and Shikanai T. Physiological functions of cyclic electron transport around Photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **67** (1), 81–106 (2016). DOI: 10.1146/annurev-arplant-043015-112002
  61. Walters R. G. and Horton P. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: Changes in composition of the photosynthetic apparatus. *Planta*, **195** (2), 248–256 (1994). DOI: 10.1007/BF00199685
  62. Gray G. R., Savitch L. V., Ivanov A. G., and Huner N. P. A. Photosystem II excitation pressure and development of resistance to Photoinhibition (II. Adjustment of photosynthetic capacity in winter wheat and winter rye). *Plant Physiol.*, **110** (1), 61–71 (1996). DOI: 10.1104/pp.110.1.61

## Regulation of Electron Transport in Chloroplasts: Induction Processes in *Tradescantia* Leaves

I.S. Suslichenko\*, B.V. Trubitsin\*, and A.N. Tikhonov\*

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

The results of a comparative study of electron transport in chloroplasts *in situ* in leaves of shade-tolerant and light-loving species of *Tradescantia* (*T. fluminensis* and *T. sillamontana*) grown under conditions of strong (800–1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) or weak (moderate) illumination (50–125  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) are described. Electron transport processes were monitored by electron paramagnetic resonance and optical spectroscopy. Photoinduced redox transformations of the primary electron donor of photosystem I ( $P_{700}$ ) and slow induction of chlorophyll *a* fluorescence were studied. It was shown that plants acclimated to high light intensity are characterized by more rapid processes of  $P_{700}$  oxidation and attenuation of chlorophyll *a* fluorescence compared to plants grown at low light intensity. The data obtained are analyzed in the context of “short-term” mechanisms of pH-dependent regulation of electron transport in intact chloroplasts (non-photochemical quenching of excitation in photosystem II, retardation of plastoquinol oxidation by cytochrome *b<sub>6</sub>f*-complex, and activation of Calvin–Benson cycle reactions).

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