

ОЦЕНКА ГЕТЕРОГЕННОСТИ АНТЕННЫ И АКТИВНОСТИ КИСЛОРОД-ВЫДЕЛЯЮЩЕГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ II МАТЕМАТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

© 2024 г. Н.С. Дегтерева*, Т.Ю. Плюснина*,[#], С.С. Хрущев*, Р.Н. Червицов*, Е.Н. Воронова*, О.В. Яковлева*, Т.К. Антал**, Г.Ю. Ризниченко*, А.Б. Рубин*

*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/12, Москва, 119234, Россия

**Лаборатория комплексных экологических исследований Псковского государственного университета, Советская ул., 21, Псков, 180000 Россия

[#]E-mail: plusn@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.03.2024 г.

После доработки 09.04.2024 г.

Принята к публикации 17.04.2024 г.

Фотосистема II — один из основных пигмент-белковых комплексов фотосинтеза, обладающий высокой чувствительностью к неблагоприятным факторам внешней среды. Неоднородность свойств фотосистемы II необходима для устойчивости автотрофных организмов к стрессовым факторам. Оценка гетерогенности фотосистемы II может быть использована в экологическом мониторинге для оперативного выявления загрязнения окружающей среды. Предлагается комплексный подход к оценке гетерогенности фотосистемы II, основанный на математическом анализе формы кривой индукции флуоресценции хлорофилла *a* образцов, обработанных 3-(3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилмочевиной с помощью математической модели и параметров JР-теста. Были проанализированы кривые индукции флуоресценции, полученные для обработанных образцов культуры клеток *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Pleurochloris* и *Stichococcus* при выращивании на свету интенсивностью 8 и 16 Вт·м⁻². Для всех случаев проведена оценка соотношения реакционных центров с различным размером антенн (альфа- и бета-центров), а также определена доля активных и неактивных кислород-выделяющих комплексов.

Ключевые слова: фотосистема II, математическая модель, гетерогенность реакционного центра.

DOI: 10.31857/S0006302924030072, EDN: OFUFTW

Пигмент-белковые комплексы фотосистемы II (ФСII) хорошо изучены в экспериментальных и модельных исследованиях. Форма кривых индукции флуоресценции, отражающих динамику переходов между состояниями ФСII, является чувствительным индикатором состояния реакционного центра ФСII. Изменение формы кривой свидетельствует об изменениях в тех или иных структурах реакционного центра ФСII и отражает изменение внешних условий или действие стресса. Реакционные центры ФСII гетерогенны по своей природе. Гетерогенность может проявляться в строении и размере светособирающей антенны. Еще одним вариантом гетерогенности ФСII являются Q_B-невосстанавливающие центры, в которых частично или полностью заблокирован

перенос электрона с первичного хинона на вторичный. Донорная часть ФСII, связанная с кислород-выделяющим комплексом (КВК), также может проявлять гетерогенность вследствие различной активности КВК. Так, в работе [1] для культуры водоросли *Chlamydomonas* было показано, что 12–16% реакционных центров (РЦ) в мембранах, обогащенных ФСII, не имеют марганцевых кластеров, входящих в состав кислород-выделяющих комплексов. Было высказано предположение, что это связано с тем, что часть реакционных центров ФСII в препаратах находятся в процессе сборки или деградации [1, 2].

Гетерогенность антенны ФСII была впервые описана в работах [3, 4]. Анализируя кинетику подъема кривой индукции флуоресценции адаптированных к темноте хлоропластов в присутствии ингибитора ФСII диурона (N-(3,4-дихлорфенил)-N-диметилмочевина — DCMU), авторы выдвинули предположение о существовании двух

Сокращения: ФСII — фотосистема II, КВК — кислород-выделяющий комплекс, РЦ — реакционный центр, DCMU — N-(3,4-дихлорфенил)-N-диметилмочевина (диурон).

популяций ФСII. Известно, что комплементарная площадь над кривой индукции флуоресценции (площадь между кривой флуоресценции и горизонтальной линией на максимальном уровне флуоресценции F_m) в присутствии DCMU пропорциональна количеству фотосистем, способных осуществлять восстановление первичного хинона Q_A [5, 6]. Авторы работ [3, 4], рассматривая в полулогарифмическом масштабе кинетику индукции флуоресценции в присутствии DCMU, обнаружили две фазы с различными характерными временами и соотнесли их с двумя популяциями ФСII, а именно, ФСII α и ФСII β . В дальнейшем была обнаружена и третья, еще более медленная, фаза, которую соотнесли с популяцией ФСII γ [7, 8].

Работы, в которых были получены трехмерные структуры ассоциированных с ФСII светособирающих комплексов, появились сравнительно недавно [9, 10]. Более ранние предположения о строении реакционных центров ФСII α , ФСII β и ФСII γ основывались на исследовании кинетики индукции флуоресценции. Считалось, что реакционные центры ФСII γ имеют только «коровую» антенну (~50 молекул хлорофилла a), реакционные центры ФСII β в дополнение к коровой антенне имеют также внутреннюю антенну (суммарно ~130 молекул хлорофилла a и b), а в реакционных центрах ФСII α имеется также периферическая антенна (суммарно ~210–250 молекул хлорофилла a и b) [11, 12]. Доминирующая форма (ФСII α) локализована в гранях [13] и характеризуется наибольшей светособирающей антенной. Предполагается, что несколько реакционных центров ФСII α связаны общей антенной и способны передавать энергию возбуждения друг другу, что приводит к появлению сигмоидального участка на кривой индукции флуоресценции в присутствии DCMU [14]. Однако в работе [15] экспериментально было показано, что сигмоидальный участок может появиться и в условиях отсутствия связности (когда реакционные центры содержат только коровую антенну), а его появление может быть связано, как предполагают авторы процитированной работы, с конформационными изменениями в реакционном центре. ФСII β располагаются в основном в стромальной области и характеризуются примерно в 2 раза меньшим размером светособирающей антенны по сравнению с ФСII α , а также невозможностью передачи возбуждения между реакционными центрами, что приводит к экспоненциальной кинетике кривой индукции флуоресценции в присутствии DCMU. Процессы разделения зарядов и излучения флуоресценции в α - и β -центрах предполагаются сходными [16].

Сообщалось, что стресс, вызываемый действием окружающей среды, может влиять на гете-

рогенность ФСII, увеличивая долю реакционных центров ФСII β [17–20]. Как было показано в работе [21], размер антенны может меняться и в процессе адаптации к стрессу. Таким образом, анализ неоднородности реакционных центров по размеру светособирающей антенны может быть использован для определения структурных и/или функциональных изменений в условиях стресса, которые могут оказать негативное влияние на продуктивность ФСII и рост биомассы.

Для оценки размера антенны ФСII применяются различные методы, основанные на регистрации индуцированных светом изменений поглощения ее компонентов [22], регистрации скорости фиксации CO_2 [23], стационарной скорости выделения кислорода [24], мгновенного выхода кислорода [25] или мгновенного высвобождения протонов [26]. Однако применение таких методов возможно лишь в условиях *in vitro* и позволяет получить лишь достаточно грубые усредненные оценки размера антенны.

Другой подход основан на анализе формы кривой индукции флуоресценции хлорофилла a в присутствии DCMU математическими методами [27] и позволяет выявить существование нескольких пулов реакционных центров ФСII с различным размером антенны, т.е. охарактеризовать ее гетерогенность. Получение индукционных кривых в присутствии DCMU не вызывает трудностей и позволяет получать обширные наборы таких кривых, например, на разных стадиях адаптации растительных организмов к стрессу. Это дает возможность оценить динамику изменения гетерогенности антенны ФСII в процессе развития стресса.

Математические методы, используемые для обработки кривых индукции флуоресценции, удобны тем, что позволяют достаточно быстро провести анализ большого количества экспериментальных кривых. Одним из наиболее широко используемых математических методов выявления различных типов реакционных центров (ФСII α , ФСII β и ФСII γ) является выделение нескольких экспоненциальных фаз с различными характерными временами на площади между кривой индукции флуоресценции, отложенной в полулогарифмическом масштабе, и горизонтальной линией на максимальном уровне флуоресценции F_m (комплементарной площади). Наличие нескольких экспоненциальных фаз, как правило, соотносят с существованием нескольких популяций реакционных центров с разным размером светособирающей антенны: ФСII α , ФСII β и ФСII γ . Однако, как указывалось в работах [27, 28], точность метода разложения на экспоненты очень сильно зависит от точности определения максимума индукционной кривой значения F_m . Ошибка на 2–3% в определении F_m может приве-

сти к ошибке на 100% в определении характерных времен и амплитуд фаз на кривой. В связи с этим было предложено [27] использовать для анализа индукционных кривых математическую модель ФСII. В этом случае нет необходимости использовать комплементарные площади, а оценка гетерогенности производится непосредственно с помощью модели, путем идентификации ее параметров по экспериментальным данным. Для анализа гетерогенности реакционных центров в образцах *Chlamydomonas*, обработанных DCMU, в работах [27, 29] была использована простая модель, рассматривающая два состояния ФСII — «открытые» и «закрытые» реакционные центры. Комбинация из нескольких таких моделей позволила авторам оценить долю различных реакционных центров (ФСII α , ФСII β и ФСII γ). Однако необходимо отметить, что фазы, обнаруживаемые на индукционной кривой в присутствии DCMU, могут отражать как наличие реакционных центров ФСII с антеннами различного размера, так и процессы с различными характерными временами, происходящие в одном реакционном центре, на что было указано в работах [3, 4]. Использование модели, включающей только два состояния [27, 29], не может ответить на вопрос, с чем соотносится дополнительная экспоненциальная фаза на кривой комплементарной площади — с другим типом антенны или с каким-либо процессом, поскольку единственная реакция в такой модели характеризует лишь световую стадию переноса электрона. В работе [30] нами был предложен метод, основанный на иерархии времен процессов ФСII, позволивший корректно упростить детальную модель ФСII и свести систему из 24 дифференциальных уравнений к системе из 2-х дифференциальных уравнений. Такой подход позволил получить редуцированную модель, параметры которой содержат все константы исходной детальной модели, что позволило после аппроксимации модели по экспериментальным кривым дать интерпретацию процессов в терминах детальной модели, рассматривая элементарные стадии переноса электронов. Для того чтобы использовать полученную редуцированную модель для оценки гетерогенности реакционных центров ФСII, была предложена комбинация из 4-х таких моделей, отличающихся долями α - и β -центров (ФСII α , ФСII β) и долями активных и неактивных кислород-выделяющих комплексов. С помощью такого подхода было показано [30], что дополнительная фаза на кривой индукции флуоресценции образцов клеток водорослей, обработанных DCMU, при высокой интенсивности света ($2000 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$ и выше) может соответствовать реакции перехода КВК из состояния S_1 в состояние S_2 . В данной работе демонстрируется применение разработанной модели [30] в комплексе с

параметрами JIP-теста для оценки и анализа гетерогенности реакционных центров пяти различных видов микроводорослей, каждая из которых культивировалась при двух различных световых условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культивирование клеточных культур водорослей. Культуры клеток пяти различных видов микроводорослей: зеленых (*Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Stichococcus*) и желто-зеленых (*Pleurochloris*) выращивали в течение 14 суток на среде Тамия в колбах Эрленмейера объемом 250 мл при температуре 24°C. Каждую из культур выращивали при постоянном освещении на двух различных интенсивностях света: 8 Вт/м^2 ($35 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$) и 16 Вт/м^2 ($70 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$). Пробы отбирали в среднелогарифмической фазе роста культуры (около 10 мкг хлорофилла/мл).

Отбор проб, обработка DCMU. Образцы клеточной суспензии разливали в колбы Эрленмейера емкостью 100 мл. Для нормализации данных, полученных в ходе различных экспериментов, суспензию водорослей разводили средой культивирования до оптической плотности при длине волны 680 нм $D = 0.1$ при длине оптического пути 1 см. Все дальнейшие операции с образцами проводились в полной темноте. После каждого этапа инкубации образец перемешивали, чтобы предотвратить осаждение клеток. Образцы оставляли в темноте на 10 мин. После этого добавляли раствор DCMU до достижения конечной концентрации 5 мкМ. Образцы инкубировали с DCMU в течение 5 мин перед измерением флуоресценции хлорофилла *a*.

Измерение кривых индукции флуоресценции. Индукционные кривые измеряли с помощью флуориметра МЕГА-25, разработанного на кафедре биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова [31]. В качестве источника действующего света использовали светодиод с максимумом испускания на 455 нм, флуоресценцию регистрировали в диапазоне 670–750 нм с помощью кремниевого фотодиода. Измерение индукционных кривых проводили при 5 различных интенсивностях действующего света: $I_1 = 1840 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$, $I_2 = 3440 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$, $I_3 = 4900 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$, $I_4 = 6230 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$, $I_5 = 7500 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$.

Подготовка экспериментальных данных для анализа с помощью модели. Для первичного анализа кривых индукции флуоресценции использовали программу ruPhotoSyn [32, 33]. Для каждой кривой было оценено время, необходимое для достижения максимальной интенсивности флуоресценции, и для аппроксимации модели были

взяты 200 точек с интервалом времени, в основном равномерным в логарифмическом масштабе. Для каждого эксперимента точки были нормализованы к минимальному значению (F_m), измеренному при самой низкой интенсивности света.

Математическая модель для анализа кривых индукции флуоресценции. В работе [30] была разработана детальная модель переходов между 24 состояниями ФСII, реализующимися при действии на ФСII ингибитора электронного транспорта диурона (DCMU). Диапазон характерных времен переходов между состояниями в ФСII составляет 9 порядков — от пикосекунд до сотен миллисекунд. Наличие такой иерархии времен позволило провести редукцию модели, используя теорему Тихонова [34]: все переменные системы были разделены на так называемые «быстрые» переменные — уравнения, которые содержат малый параметр при производной, и «медленные» — оставшиеся переменные, после чего уравнения для «быстрых» переменных были заменены на алгебраические. Исходная модель, состоящая из 24 обыкновенных дифференциальных линейных уравнений, была, таким образом, редуцирована в систему из 3-х обыкновенных дифференциальных линейных уравнений. Важно отметить, что решения исходной и редуцированной моделей различались только на интервале времени до сотен наносекунд, а далее совпадали на всем остав-

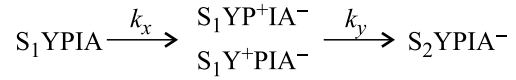


Рис. 1. Схема редуцированной системы, описывающая переходы в реакционном центре ФСII под действием DCMU. S_i — состояния КВК, Y — состояния тирозина Z , P — состояния P_{680} , I — состояния феофитина, A — состояния первичного хинона Q_A . $S_1 Y P I A$ — начальное состояние ФСII сразу после темновой адаптации, где КВК находится в состоянии S_1 , а все остальные переносчики находятся в нейтральном состоянии; $S_1 Y P^+ I A^-$ и $S_1 Y^+ P I A^-$ — два состояния, находящиеся в быстром равновесии, где КВК в состоянии S_1 , Q_A восстановлен, а электрон находится либо на тирозине Y , либо на P_{680} ; $S_2 Y P I A^-$ — состояние, где Q_A восстановлен, а КВК находится в состоянии S_2 .

шемся интервале времени. При этом диапазон экспериментальных измерений начинается от десятков микросекунд, т.е. редуцированная модель описывает экспериментальные кривые с той же точностью, что и исходная детальная модель. Таким образом, были выделены три ключевых состояния (рис. 1), динамика переходов между которыми определяет форму кривой индукции флуоресценции, полученной при обработке ФСII DCMU.

Система дифференциальных уравнений, описывающая переходы между ключевыми состояниями на рис. 1, имеет вид:

$$\frac{dx}{dt} = -k_x \cdot x, \quad \frac{dy}{dt} = k_x \cdot x - k_y \cdot y, \quad \frac{dz}{dt} = k_y \cdot y. \quad (1)$$

Учитывая закон сохранения $x + y + z = 1$, можно найти аналитическое решение:

$$x = \exp(-k_x \cdot t), \quad z = \frac{k_y}{k_y - k_x} \cdot \exp(-k_x \cdot t) + \frac{k_x}{k_y - k_x} \cdot \exp(-k_y \cdot t) + 1, \quad y = 1 - x - z, \quad (2)$$

где k_x и k_y — параметры, состоящие из сочетаний констант элементарных стадий детальной модели [30]. Параметр k_x включает световую константу и константы разделения и рекомбинации зарядов в открытых центрах, по значению близок к световой константе. Параметр k_y включает константу переноса электрона от КВК на тирозин и кон-

станты восстановления и окисления P_{680} , по значению близок к константе переноса электрона от КВК на тирозин.

Выражение для интенсивности флуоресценции $F(t)$ состоит из «быстрых» переменных, однако после редукции системы его можно записать через «медленные» переменные с учетом аналитических выражений (2) как

$$F(t) = A_1 \cdot (1 - \exp(-k_x \cdot t)) + A_2 \cdot (1 - \exp(-k_y \cdot t)), \quad (3)$$

где $A_1 = -\frac{F_{ot}}{1 - F_{ot}} + \frac{k_y - k_x \cdot K_{pred} / (1 + K_{pred})}{(k_y - k_x) \cdot (1 - F_{ot})}$, $A_2 = -\frac{k_x (1 - K_{pred} / (1 + K_{pred}))}{(k_y - k_x) \cdot (1 - F_{ot})}$, K_{pred} — константа

равновесия в реакции переноса электрона от тирозина на P_{680} , F_{ot} — параметр, аналогичный F_0 , минимальное значение флуоресценции для кривой, является сочетанием констант разделения зарядов в открытых и закрытых центрах, а также

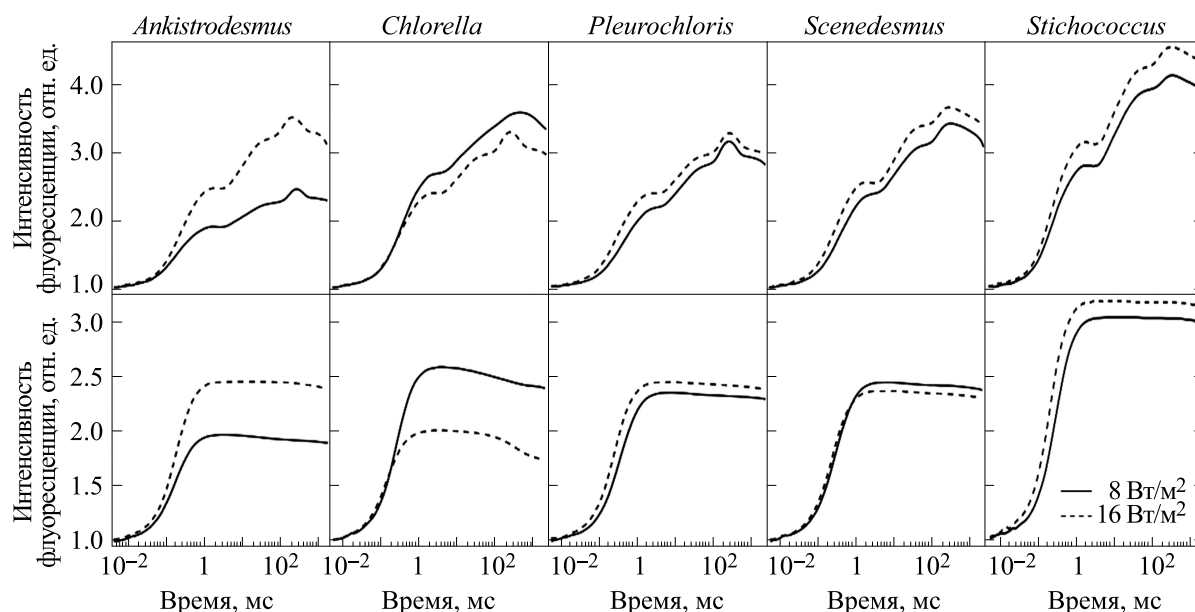


Рис. 2. Кривые индукции флуоресценции, нормированные на F_0 , без обработки DCMU (верхний ряд), с обработкой DCMU (нижний ряд). Интенсивность действующего света $I = 3440 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

константы рекомбинации. Конкретный вид выражений представлен в работе [30]. Таким образом, решение модели представляет собой двухфазную кривую, описываемую двумя экспоненциальными функциями, нарастание или спад которой будет определяться знаками амплитуд A_1 и A_2 , зависящими от конкретного сочетания входящих в них параметров.

Простой вид полученной модели позволяет составлять различные комбинации для моделирования гетерогенности антенны и гетерогенно-

сти донорной стороны ФСII. Флуоресценцию с учетом разных долей α - и β -центров можно записать как

$$F_{\alpha\beta} = \alpha \times F_{\alpha} + \beta \times F_{\beta},$$

где F_{α} и F_{β} — флуоресценция альфа- и бета-центров соответственно.

Каждый из вариантов реакционного центра ФСII может содержать как активный, так и неактивный КВК, что может быть отражено как

$$F_{\alpha} = s \times F_{\alpha}^{s+} + (1 - s) \times F_{\alpha}^{s-}, F_{\beta} = s \times F_{\beta}^{s+} + (1 - s) \times F_{\beta}^{s-}, \quad (4)$$

где F_i^{s+} — флуоресценция i -го центра с активным КВК, F_i^{s-} — флуоресценция i -го центра с неактивным КВК, s — доля активных КВК. Таким образом, мы имеем комбинацию из 4-х моделей, в целом отражающую гетерогенность и антенны, и КВК.

Идентификация параметров модели и вычисление стандартных ошибок. Аппроксимацию математической модели по экспериментальным данным и построение соответствующих графиков проводили с помощью программы DBSolve [35]. Чтобы получить стандартные ошибки для оценок параметров, мы уточнили результаты аппроксимации с помощью пакета lmfit Python [36]. Графики моделей были созданы с использованием пакета Matplotlib Python [37].

Параметры JIP-теста. В дополнение к анализу индукционных кривых с помощью математиче-

ской модели, по индукционным кривым, зарегистрированным без обработки DCMU, были вычислены следующие параметры JIP-теста [38]: V_j — количество Q_B -невосстанавливающих центров, PI — индекс производительности, F_v/F_m — квантовый выход первичной фотохимии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

С помощью комбинированной модели были проанализированы кривые индукции флуоресценции, полученные для пяти различных видов водорослей (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Pleurochloris*, *Stichococcus*), выращенных при двух разных интенсивностях света: $I_1 = 8 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$ и $I_2 = 16 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$. На рис. 2 приведены нормированные на F_0 кривые, полученные при интенсивно-

сти действующего света $I = 3440 \text{ мкЭ м}^{-2}\text{с}^{-1}$. Кривые, полученные с добавлением DCMU, анализировали с помощью комбинированной модели (4), кривые, полученные без добавления DCMU, анализировали с помощью JIP-теста.

При анализе кривых с помощью модели мы исходили из предположения, что различия между альфа- и бета-центрами ограничиваются только эффективностью светосбора, и, как следствие, константами скоростей светозависимого образования возбужденных состояний пигмента реакционного центра в реакции $P \rightarrow P^*$ (соответственно $k_{\alpha\alpha}$ и $k_{\alpha\beta}$), тогда как остальные константы скоростей всех реакций переноса электрона одинаковы. С помощью программы DBSolve [35] была проведена идентификация параметров этой модели для описанных выше наборов данных, каждый из которых включал несколько индукционных кривых, зарегистрированных для одной и той же пробы культуры микроводорослей при пяти различных интенсивностях действующего света (см. раздел «Материалы и методы»). Для аппроксимации были выбраны следующие параметры редуцированной модели, представляющие собой сочетания элементарных констант исходной детальной модели [30]:

- $k_{\alpha\alpha}$, $k_{\alpha\beta}$ — константы, характеризующие скорости светозависимого образования возбужденных состояний пигмента реакционного центра для альфа- и бета-центров;
- k_y — константа, характеризующая скорость перехода КВК из состояния S_1 в состояние S_2 ;
- K_{pred} — константа равновесия в реакции переноса электрона от тирозина на P_{680} ;
- α — доля альфа-центров;
- s — доля активных КВК;
- F_{0f} — отношение минимального уровня флуоресценции к максимальному в комбинированной модели.

Для каждого набора данных, полученного для одной пробы, идентификацию параметров модели проводили по пяти экспериментальным кривым, зарегистрированным при разной интенсивности действующего света. Таким образом, была обеспечена единственность наборов найденных параметров. Результаты аппроксимации приведены на рис. 3. Значения параметров, полученные в результате аппроксимации, представлены в табл. 1.

Анализ формы кривых в пакете pyPhotoSyn с помощью мультиэкспоненциальной аппроксимации показал, что на всех кривых, полученных после добавления DCMU, можно выделить три в разной степени выраженные фазы (см. пример на рис. 4). Нарастание интенсивности флуоресценции содержит две фазы экспоненциального

роста с разными характерными временами и разными амплитудами. Сигмоидальность начального участка кривой, на котором интенсивность флуоресценции нарастает медленнее, чем по экспоненте, может быть связана с дополнительной экспоненциальной фазой с характерным временем порядка десятков микросекунд и отрицательной амплитудой.

Предложенная математическая модель позволяет не только выделить на кривой экспоненциальные фазы, но и дать интерпретацию каждой из них. Более выраженная сигмоидальность начальной фазы (фаза с амплитудой A_1) кривой в рамках нашей модели отражает наличие большого числа активных КВК, сама фаза соответствует переносу электрона от КВК. Амплитуда этой фазы зависит как от доли активных КВК, так и от интенсивности действующего света при измерении индукционных кривых: она практически незаметна при низкой интенсивности света и растет с ее увеличением, а также с уменьшением доли неактивных КВК. Характерное время этой фазы не зависит от интенсивности действующего света.

Вторая и третья фазы отвечают за рост интенсивности флуоресценции и связаны с реакционными центрами с различным размером светособирающей антенны. Фаза с амплитудой A_2 имеет более короткое характерное время и соответствует ФСII α , фаза с амплитудой A_3 соответствует ФСII β . Характерные времена этих фаз соотносятся с размерами антенны альфа- и бета-центров соответственно. Изменение формы начального участка характеризует изменение активности КВК, тогда как изменение соотношения амплитуд двух других фаз характеризует изменение в соотношении альфа- и бета-центров. Идентификация параметров модели по экспериментальным точкам позволила оценить эти изменения количественно (табл. 1).

Нужно отметить, что в определенных условиях, например, при очень высоких интенсивностях действующего света, когда характерное время фазы, связанной с переносом электронов от КВК, становится больше характерного времени фазы, связанной с разделением зарядов в альфа-центрах, амплитуды всех трех фаз могут оказаться положительными. В этом случае связанную с КВК фазу можно ошибочно соотнести с еще одним типом реакционных центров ФСII. Чтобы избежать такой ошибки, необходимо проводить эксперименты при нескольких интенсивностях действующего света. Если фаза характеризует один из типов реакционных центров (ФСII α , ФСII β и ФСII γ), характерное время этой фазы будет меняться обратно пропорционально интенсивности действующего света. Если же фаза характеризует перенос электронов от КВК, ее ха-

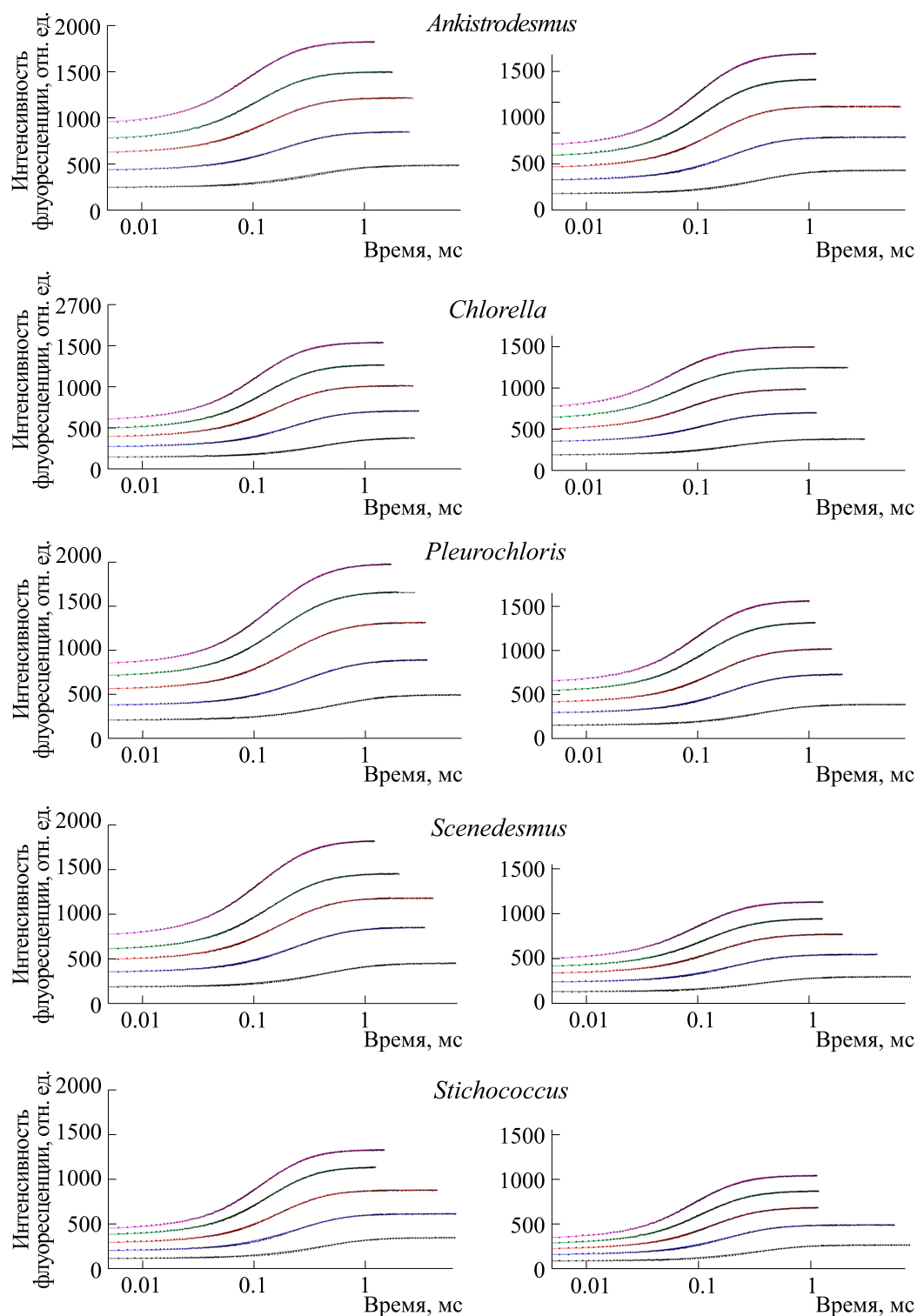


Рис. 3. Решения модели (линии), соответствующие экспериментальным кривым (точки) индукции флуоресценции, полученным при 5 интенсивностях действующего света. Расположение и цвет кривых (снизу вверх) соответствуют интенсивностям $I_1 = 1840 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (черная), $I_2 = 3440 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (синяя), $I_3 = 4900 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (красная), $I_4 = 6230 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (зеленая), $I_5 = 7500 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (лиловая). Каждую из культур выращивали при постоянном освещении: левый ряд графиков – 8 Вт/м^2 ($35 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$), правый ряд графиков – 16 Вт/м^2 ($70 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$).

Таблица 1. Параметры модели, полученные при аппроксимации экспериментальных кривых, и параметры JIP-теста

	<i>Ankistrodesmus</i>		<i>Chlorella</i>		<i>Pleurochloris</i>		<i>Scenedesmus</i>		<i>Stichococcus</i>	
	$I = 8 \text{ Вт/м}^2$ (35 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 16 \text{ Вт/м}^2$ (70 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 8 \text{ Вт/м}^2$ (35 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 16 \text{ Вт/м}^2$ (70 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 8 \text{ Вт/м}^2$ (35 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 16 \text{ Вт/м}^2$ (70 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 8 \text{ Вт/м}^2$ (35 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 16 \text{ Вт/м}^2$ (70 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 8 \text{ Вт/м}^2$ (35 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)	$I = 16 \text{ Вт/м}^2$ (70 мкЭ $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$)
$k_{\text{ха}}, \text{мс}^{-1}$	2.90 ± 0.02	2.77 ± 0.3	2.52 ± 0.03	4.61 ± 0.05	2.02 ± 0.03	2.74 ± 0.02	2.14 ± 0.02	2.73 ± 0.02	2.16 ± 0.02	2.99 ± 0.03
$k_{\text{хб}}, \text{мс}^{-1}$	0.70 ± 0.05		0.85 ± 0.06		0.68 ± 0.03		0.52 ± 0.05		0.36 ± 0.03	
α	0.72 ± 0.01	0.74 ± 0.01	0.77 ± 0.01	0.65 ± 0.01	0.57 ± 0.01	0.70 ± 0.01	0.71 ± 0.01	0.73 ± 0.02	0.74 ± 0.01	0.66 ± 0.02
s	0.26 ± 0.01	0.93 ± 0.04	0.85 ± 0.03	0.25 ± 0.01	0.79 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.58 ± 0.02	0.40 ± 0.02	0.83 ± 0.03	0.76 ± 0.03
$k_y, \text{мс}^{-1}$	41.03 ± 1.29		35.25 ± 1.07		28.23 ± 0.66		33.58 ± 1.43		32.12 ± 0.93	
K_{pred}^{**}	1.52		1.46		1.83		1.88		1.17	
$F_{\text{от}}$	0.35*	0.4*	0.36*	0.33*	0.39*	0.37*	0.34*	0.32*	0.3*	0.27*
V_j	0.63*	0.59*	0.65 ± 0.01	0.81*	0.55*	0.62 ± 0.02	0.57*	0.58*	0.58 ± 0.02	0.60*
PI	0.15*	0.48*	0.47 ± 0.03	0.05*	0.57 ± 0.01	0.38 ± 0.04	0.64 ± 0.02	0.52*	0.66 ± 0.11	0.65*
F_v/F_m	0.58*	0.71*	0.71*	0.59*	0.67*	0.69*	0.71*	0.73*	0.76*	0.78*

Примечание. Приведены средние значения и стандартная ошибка. * — Стандартная ошибка < 0.01 ; ** — параметр K_{pred} был зафиксирован в ходе определения стандартных отклонений параметров, поскольку была обнаружена большая корреляция между ним и параметром k_y .

рактерное время при изменении интенсивности действующего света не должно изменяться.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Использование математической модели и параметров JIP-теста позволило получить комплексную оценку гетерогенности реакционных центров ФСII для пяти различных видов водорослей (*Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Pleurochloris*, *Scenedesmus*, *Stichococcus*), каждую из которых выращивали в двух разных световых условиях. Несмотря на то, что ФСII является довольно консервативным пигмент-белковым комплексом, гетерогенность ФСII проявляется и у всех видов водорослей, выращенных в одинаковых световых условиях, и у одного вида водоросли, выращенного в разных световых условиях (табл. 1). Известно, что оптимальные значения освещенности для разных видов водорослей варьируют в широких пределах. В зависимости от предпочтений условий роста водоросли, как и высшие растения, можно разделить на светолюбивые и теневыносливые. Светолюбивые водоросли нуждаются в большом коли-

честве света для нормального роста и фотосинтеза. Это, в основном, синезеленые и многие зеленые водоросли, которые обильно растут в летнее время в верхних слоях воды. Теневыносливые водоросли, напротив, приспособлены к условиям низкой освещенности и избегают яркого света. Используемые для анализа в данной работе водоросли являются лабораторными культурами, содержащимися в одинаковых световых условиях. В естественных условиях эти виды водорослей могут входить в состав планктона прудов и озер. Предпочтение тех или иных световых условий при схожести фотосинтетического аппарата, возможно, определяется физиологией этих организмов, сложившейся в процессе эволюции. Индексы PI (индекс производительности) и F_v/F_m (квантовый выход первичной фотохимии) показывают, что для *Ankistrodesmus* более предпочтителен высокий свет, для *Chlorella* — более низкий свет, тогда как остальные (*Pleurochloris*, *Scenedesmus*, *Stichococcus*) почти безразличны к световым условиям их культивирования.

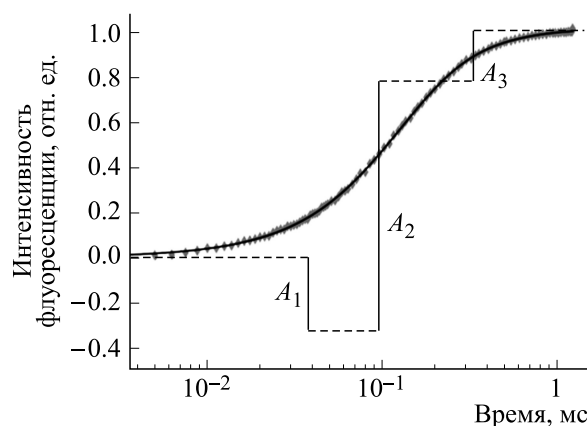


Рис. 4. Разложение кривой индукции флуоресценции, полученной для *Chlorella*, выращенной при $8 \text{ Вт м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ($35 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$), на три экспоненциальные фазы (сумма трех функций вида: $A_i (1 - \exp(-t/t_i))$ в пакете ruPhotoSyn методом наименьших квадратов: начальная — отрицательная ($A_1 < 0$), и две положительные, основная, A_2 , соответствующая альфа-центрам, и дополнительная с меньшей амплитудой, A_3 , соответствующая бета-центрам. Визуализация разложения в виде ступенчатой кривой получена методом, описанным в [32].

Эффективное сечение поглощения светособирающей антенны у альфа-центров, характеризующее параметром модели k_x , у всех видов, кроме *Ankistrodesmus*, на более высоком свете роста увеличивается (у *Chlorella* значительней, чем у других), у *Ankistrodesmus* немного уменьшается. В целом это коррелирует с предпочтительностью в свете по параметрам PI и F_v/F_m . Изменение доли альфа- и бета-центров, также как и параметр k_x , отражает изменения в светосборе ФСII. Анализ изменения доли альфа- и бета-центров показывает, что у *Chlorella* и *Stichococcus* доля альфа-центров падает на 8–10% при росте на более высоком свете, тогда как у *Pleurochloris*, наоборот, возрастает, а у *Ankistrodesmus* и *Scenedesmus* практически не меняется. Можно предположить, что отмеченное ранее увеличение эффективного сечения светособирающей антенны при действии неблагоприятных факторов среды [33] может быть связано с уменьшением доли бета-центров при снижении скорости роста культуры.

Изменения в акцепторной части характеризуются параметром V_j (доля Q_B -невосстанавливающих центров). Анализ показывает, что наибольшее увеличение доли Q_B -невосстанавливающих центров (на ~15% при росте на высоком свете) характерно для *Chlorella*, менее значительное (на ~7%) для *Pleurochloris*, практически не меняется у *Scenedesmus* и *Stichococcus*, и немного падает (на ~4%) у *Ankistrodesmus*. Видно, что изменение доли Q_B -невосстанавливающих центров, как и эффективное сечение антенны, коррелирует с предпочтительностью световых условий роста по PI и F_v/F_m .

Изменения в показателях, связанных со светосбором, интуитивно ожидаемы. Несколько не-

ожиданными оказались изменения активности кислород-выделяющего комплекса в зависимости от световых условий роста. Доля активных КВК (параметр s в модели) при росте на более высоком свете значительно меняется у *Chlorella* (уменьшается на ~60%) и у *Ankistrodesmus* (увеличивается на ~65%), менее значительно — у *Scenedesmus* и *Stichococcus*, и практически не меняется у *Pleurochloris*. Как указывалось выше, изменение активности КВК может быть связано со стадиями сборки или деградации РЦ ФСII [1, 2] в процессе роста культуры. Увеличение интенсивности света ускоряет фотоповреждение РЦ. Синтез белков и, соответственно, процессы репарации поврежденных центров, как и рост культуры в целом, также ускоряются при увеличении интенсивности света до некоторого предела. В связи с этим, в зависимости от того, являются ли организмы светолюбивыми или теневыносливыми, при одинаковом изменении интенсивности света доля РЦ с неактивным КВК может у одних видов увеличиваться, а у других — уменьшаться. При изменении интенсивности света могут также включаться специфичные механизмы ответа на стресс. Так, в работе [39] обсуждается физиологическая роль цитохрома b_{559} , входящего в состав ФСII, в регуляции сборки или деградации РЦ и, в частности, марганцевого кластера КВК при разных интенсивностях света.

Суммируя в комплексе изменения всех показателей, можно предположить, что среди исследуемых водорослей наиболее чувствительными к свету при выращивании оказались *Ankistrodesmus* и *Chlorella*. Более высокий свет предпочтительней для *Ankistrodesmus* и менее высокий для *Chlorella*, при этом у *Ankistrodesmus* на менее благоприятном свете ухудшаются показатели только донорной части ФСII — активность кислород-выделяющего

комплекса, тогда как у *Chlorella* ухудшаются показатели и донорной, и акцепторной частей, а также светособирающей антенны.

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что приведенные оценки не претендуют на окончательный вывод по работе фотосинтетического аппарата исследованных водорослей в различных световых условиях роста. Скорее это пример комплексного использования простой модели и JР-теста для возможности всестороннего анализа эффективности работы ФСII и ее отдельных частей в различных условиях роста.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-11-00009).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания собственных исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Terentyev V. V., Shukshina A. K., Ashikhmin A. A., Tikhonov K. G., and Shitov A. V. The main structural and functional characteristics of photosystem-II-enriched membranes isolated from wild type and *cia3* mutant *Chlamydomonas reinhardtii*. *Life*, **10** (5), 63 (2020). DOI: 10.3390/life10050063
2. Terentyev V. V., Shukshina A. K., and Shitov A. V. Carbonic anhydrase CAH3 supports the activity of photosystem II under increased pH. *Biochim. Biophys. Acta—Bioenergetics*, **1860**, 582–590 (2019). DOI: 10.1016/j.bbabi.2019.06.003
3. Melis A. and Homann P. H. Kinetic analysis of the fluorescence induction in 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea poisoned chloroplasts. *Photochem. Photobiol.*, **21**, 431–437 (1975). DOI: 10.1111/j.1751-1097.1975.tb06701.x
4. Melis A. and Homann P. H. Heterogeneity of the photochemical centers in system II of chloroplasts. *Photochem. Photobiol.*, **23** (5), 343–350 (1976). DOI: 10.1111/j.1751-1097.1976.tb07259.x
5. Malkin S. and Kok B. Fluorescence induction studies in isolated chloroplasts. I—Number of components involved in the reaction and quantum yields. *Biochim. Biophys. Acta*, **126** (3), 413–432 (1966). DOI: 10.1016/0926-6585(66)90001-x
6. Murata N., Nishimura M., and Takamiya A. Fluorescence of chlorophyll in photosynthetic systems. II. Induction of fluorescence in isolated spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **120** (1), 23–33 (1966). DOI: 10.1016/0926-6585(66)90273-1
7. Hsu B.D., Lee Y.S., and Jang Y.R. A method for analysis of fluorescence induction curve from DCMU-poisoned chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **975** (1), 44–49 (1989). DOI: 10.1016/S0005-2728(89)80199-9
8. Hsu B.D. and Lee J.Y. A study on the fluorescence induction curve of the DCMU-poisoned chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta*, **1056** (3), 285–292 (1991). DOI: 10.1016/S0005-2728(05)80060-X
9. Umena Y., Kawakami K., Shen J. R., and Kamiya N. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature*, **473** (7345), 55–60 (2011). DOI: 10.1038/nature09913
10. Van Bezouwen L. S., Caffarri S., Kale R. S., Kouřil R., Thunnissen A.-M. W. H., Oostergetel G. T., and Boekema E. J. Subunit and chlorophyll organization of the plant photosystem II supercomplex. *Nat. Plants*, **3** (7), 17080 (2017). DOI: 10.1038/nplants.2017.80
11. Hsu B. D. and Lee J. Y. The photosystem II heterogeneity of chlorophyll *b*-deficient mutants of rice: a fluorescence induction study. *Aust. J. Plant Physiol.*, **22** (2), 195–200 (1995). DOI: 10.1071/PP9950195
12. Mathur S., Allakhverdiev S. I., and Jajoo A. Analysis of high temperature stress on the dynamics of antenna size and reducing side heterogeneity of photosystem II in wheat (*Triticum aestivum*). *Biochim. Biophys. Acta*, **1807** (1), 22–29 (2011). DOI: 10.1016/j.bbabi.2010.09.001
13. Anderson J. M. and Melis A. Localization of different photosystems in separate regions of chloroplast membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80** (3), 745–749 (1983). DOI: 10.1073/pnas.80.3.745
14. Joliot A. and Joliot P. Etude cinétique de la réaction photochimique libérant l'oxygène au cours de la photosynthèse. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **258**, 4622–4625 (1964).
15. Sipka G., Magyar M., Mezzetti A., Akhtar P., Zhu Q., Xiao Y., Han G., Santabarbara S., Shen J. R., Lambrev P. H., and Garab G. Light-adapted charge-separated state of photosystem II: structural and functional dynamics of the closed reaction center. *Plant Cell*, **33**, 1286–1302 (2021). DOI: 10.1093/plcell/koab008
16. Melis A. Dynamics of photosynthetic membrane composition and function. *Biochim. Biophys. Acta*, **1058** (2), 87–106 (1991). DOI: 10.1016/S0005-2728(05)80225-7
17. Pan X. L., Deng C. N., Zhang D. Y., Wang J. L., Mu G. J., and Chen Y. Toxic effects of amoxicillin on the photosystem II of *Synechocystis* sp characterized by a variety of in vivo chlorophyll fluorescence tests. *Aquat. Toxicol.*, **89** (4), 207–213 (2008). DOI: 10.1016/j.aquatox.2008.06.018
18. Singh-Tomar R., Mathur S., Allakhverdiev S. I., and Jajoo A. Changes in PS II heterogeneity in response to osmotic and ionic stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *J. Bioenerg. Biomembr.*, **44** (4), 411–419 (2012). DOI: 10.1007/s10863-012-9444-1

19. Dao L. H. T. and Beardall J. Effects of lead on two green microalgae *Chlorella* and *Scenedesmus*: photosystem II activity and heterogeneity. *Algal Res.*, **16**, 150–159 (2016). DOI: 10.1016/j.algal.2016.03.006
20. Markou G., Dao L. H. T., Muylaert K., and Beardall J. Influence of different degrees of N limitation on photosystem II performance and heterogeneity of *Chlorella vulgaris*. *Algal Res.*, **26**, 84–92 (2017). DOI: 10.1016/j.algal.2017.07.005
21. Antal T., Mattila H., Hakala-Yatkin M., Tyystjarvi T., and Tyystjarvi E. Acclimation of photosynthesis to nitrogen deficiency in *Phaseolus vulgaris*. *Planta*, **232** (4), 887–898 (2010). DOI: 10.1007/s00425-010-1227-5
22. McCauley S. W. and Melis A. Quantitation of photosystem II in spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics*, **849** (2), 175–182 (1986). DOI: 10.1016/0005-2728(86)90023-x
23. Malkin S., Armond P. A., Mooney H. A., and Fork D. C. Photosystem II photosynthetic unit sizes from fluorescence induction in leaves: correlation to photosynthetic capacity. *Plant Physiol.*, **67** (3), 570–579 (1981). DOI: 10.1104/pp.67.3.570
24. Henrysson T. and Sundby C. Characterization of photosystem II in stroma thylakoid membranes. *Photosynth. Res.*, **25** (2), 107–117 (1990). DOI: 10.1007/bf00035459
25. Wang, R. T. and Myers, J. Energy transfer between photosynthetic units analyzed by flash oxygen yield vs. flash intensity. *Photochem. Photobiol.*, **17** (5), 321–332 (1973). DOI: 10.1111/J.1751-1097.1973.Tb06360.X
26. Nedbal L., Gibas C., and Whitmarsh J. Light saturation curves show competence of the water splitting complex in inactive Photosystem II reaction centers. *Photosynth. Res.*, **30** (2–3), 85–94 (1991). DOI: 10.1007/bf00042006
27. Lazar D., Tomek P., Ilik P., and Nauš J. Determination of the antenna heterogeneity of Photosystem II by direct simultaneous fitting of several fluorescence rise curves measured with DCMU at different light intensities. *Photosynth. Res.*, **68** (3), 247–257 (2001). DOI: 10.1023/A:1012973402023
28. Kalaji H. M., Schansker G., Brestic 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., Yannicari M., Zivcak M., Cetner M. D., Samborska I. A., Stirbet A., Olsovska K., Kunderlikova K., Shelonzek H., Rusinowski S., and Baba W. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynth. Res.*, **132** (1), 13–66 (2016). DOI: 10.1007/s11120-016-0318-y
29. de Marchin T., Ghysels B., Nicolay S., and Franck F. Analysis of PSII antenna size heterogeneity of *Chlamydomonas reinhardtii* during state transitions. *Biochim. Biophys. Acta*, **1837** (1), 121–130 (2014). DOI: 10.1016/j.bbabi.2013.07.009
30. Plyusnina T. Yu., Khrushchev S. S., Degtereva N. S., Voronova E. N., Volgusheva A. A., Riznichenko G. Yu., and Rubin A. B. Three-state mathematical model for the assessment of DCMU-treated photosystem II heterogeneity. *Photosynth. Res.*, **159**, 303–320 (2024). DOI: 10.1007/s11120-024-01077-7
31. Погосян С. И., Гальчук С. В., Казимирко Ю. В., Конюхов И. В. и Рубин А. Б. Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата. *Вода: химия и экология*, **6**, 34–40 (2009).
32. Плюснина Т. Ю., Хрущев С. С., Ризниченко Г. Ю. и Рубин А. Б. Анализ кинетики индукции флуоресценции хлорофилла с помощью спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации. *Биофизика*, **60** (3), 487–495 (2015).
33. Plyusnina T. Yu., Khrushchev S. S., Degtereva N. S., Konyukhov I. V., Solovchenko A. E., Kouzmanova M., Goltsev V. N., Riznichenko G. Yu., and Rubin A. B. Gradual changes in the photosynthetic apparatus triggered by nitrogen depletion during microalgae cultivation in photobioreactor. *Photosynthetica*, **58** (SI), 443–451 (2020). DOI: 10.32615/ps.2020.002
34. Тихонов А. Н. О зависимости решений дифференциальных уравнений от малого параметра. *Матем. сб.*, **22** (64) N. 2, 193–204 (1948).
35. Gizzatkulov N. M., Goryanin I. I., Metelkin E. A., Mogilevskaya E. A., Peskov K. V., and Demin O. V. DBSolve Optimum: a software package for kinetic modeling which allows dynamic visualization of simulation results. *BMC Syst. Biol.*, **4**, 109 (2010). DOI: 10.1186/1752-0509-4-109
36. Newville M., Otten R., Nelson A., Stensitzki T., Ingargiola A., Allan D., Fox A., Carter F., Michał, Osborn R., Pustakhod D., Weigand S., Ineuhaus, Aristov A., Glenn, Mark, mgunyho, Deil Ch., Hansen A. L. R., Pasquevich G., Foks L., Zobrist N., Frost O., Stuermer, Jaskula J.-Ch., Caldwell Sh., Eendebak P., Pompili M., Nielsen J. H., and Persaud A. LMFIT: Non-Linear Least-Square Minimization and Curve-Fitting for Python. *Zenodo* (2023) DOI: 10.5281/zenodo.598352
37. Hunter J. D. Matplotlib: A 2D graphics environment. *Comput. Sci. Engineer.*, **9** (3), 90–95 (2007). DOI: 10.1109/MCSE.2007.55
38. Strasser R. J., Tsimilli-Michael M., and Srivastava A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: *Chlorophyll a fluorescence. Advances in Photosynthesis and Respiration*, Ed. by G. C. Papageorgiou and Govindjee, **19**, 321–362 (2004). DOI: 10.1007/978-1-4020-3218-9_12
39. Hamilton M. L., Franco E., Deák Z., Schlodder, E., Vass I., and Nixon P. J. Investigating the photoprotective role of cytochrome *b*-559 in Photosystem II in a Mutant with altered ligation of the haem. *Plant Cell Physiol.*, **55** (7), 1276–1285 (2014). DOI: 10.1093/pcp/pcu070

Assessment of Antenna Heterogeneity and Activity of the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II Using Mathematical Methods

N.S. Degtereva*, T.Yu. Plyusnina*, S.S. Khrushchev*, R.N. Chervitsov*, E.N. Voronova*, O.V. Yakovleva*, T.K. Antal**, G.Yu. Rznichenko*, and A.B. Rubin*

*Department of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1/12, Moscow, 119234 Russia

**Laboratory of Integrated Environmental Research, Pskov State University, Sovetskaya ul. 21, Pskov, 180000, Russia

Photosystem II is one of the main pigment-protein complexes of photosynthesis, which is highly sensitive to unfavorable environmental factors. Heterogeneity of properties in photosystem II is a key factor for the resistance of autotrophic organisms to stress factors. Assessment of the photosystem II heterogeneity can be used in environmental monitoring for rapid detection of environmental pollution. The paper presents an integrated approach for assessing the heterogeneity of photosystem II, based on a mathematical analysis of the shape of the chlorophyll a fluorescence induction curve of samples treated with 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea using a mathematical model and the parameters from the JIP-test. Fluorescence induction curves obtained for treated samples from *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Pleurochloris*, and *Stichococcus* cell cultures grown under 8 and 16 W·m⁻² of light intensities were analyzed. For all cases, the relationship between reaction centers and different antenna sizes (alpha and beta centers) was assessed, and the part of active and inactive oxygen-releasing complexes was determined.

Keywords: photosystem II, mathematical model, heterogeneity of the reaction center