

УДК 577.355.3

ВЛИЯНИЕ АККЛИМАЦИИ РАСТЕНИЙ НА ЭЛЕКТРОННЫЙ ТРАНСПОРТ В МЕМБРАНАХ ХЛОРОПЛАСТОВ *Cucumis sativus* И *Cucumis melo*

© 2023 г. М. А. Беньков^а, И. С. Сусличенко^а, Б. В. Трубицин^а, А. Н. Тихонов^а, *

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва, 119991 Россия

*e-mail: an_tikhonov@mail.ru

Поступила в редакцию 07.11.2022 г.

После доработки 01.12.2022 г.

Принята к публикации 03.12.2022 г.

В работе исследованы процессы электронного транспорта в листьях двух видов растений рода *Cucumis*, теневыносливого вида *Cucumis sativus* (огурец) и светолюбивого вида *Cucumis melo* (дыня), выращенных в условиях умеренной (50–125 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) или сильной освещенности (850–1000 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$). В качестве показателей, характеризующих активность фотосистемы 2 (ФС2), использовали параметры быстрой и медленной индукции флуоресценции хлорофилла *a*. За функционированием фотосистемы 1 (ФС1) следили по изменениям сигнала электронного парамагнитного резонанса от окисленных реакционных центров ФС1, P_{700}^{+} . Выявлено существенное различие в динамике изменений фотосинтетических показателей теневыносливых (*C. sativus*) и светолюбивых (*C. melo*) видов при их акклимации к умеренной и сильной интенсивности света. У теневыносливого вида *C. sativus* фотосинтетические показатели, характеризующие активность ФС2, обнаруживают заметную чувствительность к усилению освещения по сравнению со светолюбивым видом *C. melo*, свидетельствуя об ослаблении активности ФС2 при повышении интенсивности света при акклимации растений. В ходе длительной (более 1–2 месяцев) акклимации *C. sativus* к свету высокой интенсивности (≥ 500 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) их ФС2 теряет фотохимическую активность, чего, однако, не наблюдалось для листьев *C. melo*. Ослабление активности ФС2 в листьях *C. sativus* было обратимым — после возвращения к свету умеренной интенсивности активность ФС2 восстанавливалась до уровня, характерного для листьев *C. melo*. В листьях растений обоих видов проявляются различия в кинетике фотоиндуцированных редокс-превращений реакционных центров ФС1 в зависимости от условий акклимации. У растений, акклимированных к сильному свету, наблюдается четко выраженная замедленная фаза роста сигнала от P_{700}^{+} , которая предположительно может быть обусловлена циклическим электронным транспортом (ЦЭТ) вокруг ФС1. Отношение амплитуд сигналов ЭПР от P_{700}^{+} при действии белого и дальнего красного света (707 нм) становится выше у растений, выращенных на сильном свете. Это может быть связано с увеличением ЦЭТ, способствующего оптимизации энергетического баланса и ослаблению светового стресса при избытке освещения. Полученные результаты обсуждаются в контексте задачи об оптимизации фотосинтетических процессов при акклимации растений.

Ключевые слова: растения рода *Cucumis*, акклимация, индукция флуоресценции хлорофилла, ЭПР

DOI: 10.31857/S0233475523030039, EDN: EVMIOV

ВВЕДЕНИЕ

Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) фотосинтезирующих организмов окислительного типа содержит пигмент-белковые комплексы двух типов:

Сокращения: БИФ — быстрая индукция флуоресценции; БС — белый свет; ДКС — дальний красный свет; МИФ — медленная индукция флуоресценции; НФТ — нефотохимическое тушение; P_{700} — первичный донор электрона в фотосистеме 1; СС и УС — сильный и умеренный свет соответственно; ФСА — фотосинтетический аппарат; ФС1 и ФС2 — фотосистема 1 и фотосистема 2 соответственно; ЦКБ — цикл Кальвина–Бенсона; ЦЭТ — циклический электронный транспорт; Хл — хлорофилл; ЭПР — электронный парамагнитный резонанс; ЭТЦ — электрон-транспортная цепь; PQ — пластохинон.

фотосистему 1 (ФС1) и фотосистему 2 (ФС2), которые за счет энергии света обеспечивают перенос электронов от воды, разлагаемой в ФС2, к NADP^{+} — конечному акцептору электронов в ФС1. Перенос электронов от ФС2 к ФС1 происходит с участием цитохромного *b₆f*-комплекса и подвижных электронных переносчиков — пластохинона (PQ) и пластоцианина [1–5]. При функционировании ЭТЦ создается транс-тилакоидная разность электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\mu_{\text{H}^{+}}$), являющаяся источником энергии для работы АТФ-синтазы [6, 7]. Макроэргические продукты световых стадий фотосин-

теза (АТФ и NADPH) используются для фиксации CO_2 и синтеза углеводов в реакциях цикла Кальвина—Бенсона (ЦКБ) [8].

Продуктивность фотосинтеза зависит от условий произрастания растений. В природных условиях интенсивность и спектральный состав света изменяются в течение суток. Недостаток освещения ограничивает фотосинтез; избыток света может вызывать фотодеструктивные процессы, нарушающие работу фотосинтетического аппарата (ФСА) [9]. Существуют механизмы, оптимизирующие работу ФСА при изменении условий произрастания растений (освещение [10], температура [11–13]). Обычно выделяют быстрые (секунды—минуты) и долгосрочные (часы—сутки) механизмы регуляции фотосинтеза. Быстрые механизмы реализуются за счет (1) активации/деактивации реакций ЦКБ [14, 15], (2) pH-зависимой регуляции скорости электронного переноса по ЭТЦ [16–19], (3) перераспределения энергии света между ФС1 и ФС2 [20] и (4) структурно-функциональных перестроек ФСА [21–24]. Долгосрочные механизмы оптимизации фотосинтеза связаны с синтезом или деградацией тех или иных компонентов ФСА, которые влияют на “архитектуру” и функциональные свойства хлоропластов.

В контексте задачи о механизмах акклимации¹ растений к изменяющимся условиям среды особый интерес представляет сравнительное изучение близкородственных видов растений, принадлежащих к “контрастным” экотипам. Это могут быть, например, растения одного рода, но адаптированные к произрастанию в теневых условиях или при интенсивном освещении. Ранее, в работах [25–30], нами были изучены фотосинтетические показатели двух контрастных видов традесканции (*Tradescantia*) — теневыносливого вида *T. fluminensis* (эндемичный вид, произрастающий во влажных тропических лесах юго-востока Бразилии) и светолюбивого вида *T. sillamontana*, исторической родиной которого являются полупустынные районы Мексики и Перу [31]. Другой пример — изучение ФСА двух видов растений рода *Cucumis*, произрастающих в районах с теплым и умеренным климатом. К таким растениям относятся *C. melo* (дыня) и *C. sativus* (огурец), имеющие общих предков (род *Cucumis*). В работах [32, 33] с помощью липидорастворимых спиновых зондов было показано, что термоиндуцированные структурные переходы в тилакоидных мембранах,

которые влияют на их функциональные свойства, в хлоропластах дыни происходят при более высоких температурах (~35°C), чем в хлоропластах огурца (~20–25°C). Это наблюдение согласуется с тем, что ФСА дыни обычно функционирует при температурах, характерных для теплого климата в районах культивирования этого вида².

В настоящей работе описаны результаты исследования электрон-транспортных процессов у двух видов растений рода *Cucumis* (*C. melo* и *C. sativus*), акклимированных к высокой или к умеренной интенсивности света. ФС2 — наиболее уязвимый белковый комплекс хлоропластов, который повреждается при световом стрессе и при повышении температуры [12, 34, 35]. В качестве показателей, отражающих фотохимическую активность ФС2 [36–39], мы измеряли параметры кривых быстрой и медленной индукции флуоресценции хлорофилла *a* (Хл *a*) в ФСА листьев *in situ*. В дополнение к этому мы изучали функционирование ФС1, регистрируя редокс-превращения реакционных центров P_{700} (первичный донор электрона в ФС1) методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Показано, что кинетика фотоокисления P_{700} в листьях растений обоих видов имеет двухфазный характер. При этом у растений, акклимированных к сильному свету, наблюдается четко выраженная замедленная фаза роста сигнала от P_{700}^+ , которая может быть обусловлена циклическим электронным транспортом (ЦЭТ) вокруг ФС1 на начальных стадиях освещения листьев, адаптированных к темноте. Показано также, что в ходе длительной акклимации (более 1–2 месяцев) к свету высокой интенсивности (≥ 500 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) ФСА листьев *C. sativus* теряет активность ФС2, что, однако, не характерно для световыносливого вида *C. melo*. Ослабление активности ФС2 обратимо — после возвращения к свету умеренной интенсивности активность ФС2 восстанавливается до уровня, характерного для растений вида *C. melo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растения. Растения рода *Cucumis* выращивали в лабораторных условиях из коммерчески доступных семян огурца (сорта “дальневосточный”, “изящный”, “конкурент”, “обильный”) и дыни (сорта “алтайская”, “колхозница”, “таманская”). Растения культивировали в почвенной культуре при комнатной температуре (24–26°C) и относительной влажности 40–60%. Горшки с проростками растений (рис. 1) помещали в темную камеру, внутри которой были два освещаемых отсека,

¹ Термин “акклимация” относится к приспособлению растений к условиям их произрастания (освещение, температура, влажность, режим питания и т.д.). “Адаптацией” называют процессы, связанные с видообразованием в ходе биологической эволюции. Мы используем выражение “адаптация образца к темноте”, подразумевая, что после кратковременного (1–2 мин) предварительного освещения, выполнявшегося для стандартизации условий эксперимента, образец листа находился определенное время в темноте.

² В сельскохозяйственной культуре дыня известна более 4 тысяч лет: возделывалась в Древнем Египте, Китае, Персии, Средняя Азия.

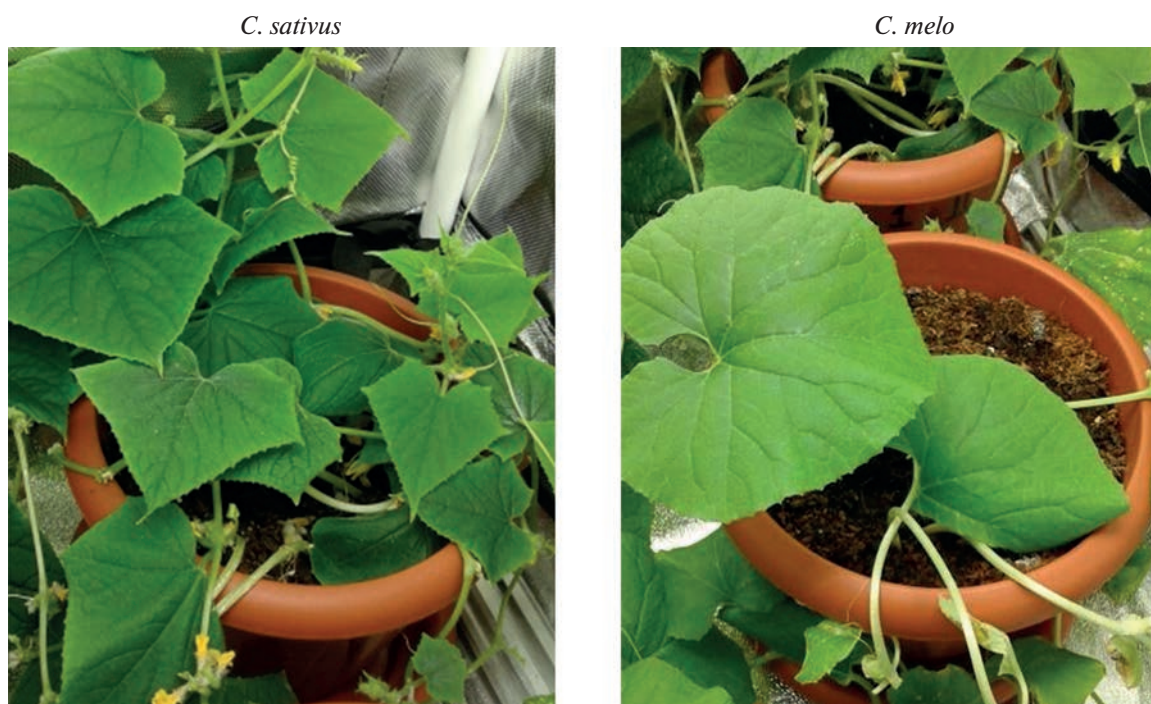


Рис. 1. Проростки растений рода *Cucumis* (*C. sativus* и *C. melo*), использованные в опытах по акклимации растений.

различающиеся по интенсивности света. Источником света служила светодиодная лампа УСС 90 магистраль Ш (ООО “ТД ФОКУС”, Россия), укомплектованная светодиодами с цветовой температурой 5000 К (Nichia, Япония). Этот свет содержит компоненты фотосинтетически активного света, включая синий, красный и дальний красный свет, необходимые для нормального роста и развития растений. Интенсивность освещения измеряли с помощью квантометра Li250A (LiCOR Biosciences, США). Осветительное устройство включали и выключали с помощью программируемого устройства. Длительность светового периода составляла 12 ч. Потоки света составляли 850–1000 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ (сильный свет, СС) или 50–125 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ (умеренный свет, УС). Для измерений использовали второй или третий зрелый лист, расположенный в верхней части побега. При измерениях характеристик листа методами флуоресцентного анализа и ЭПР образец освещали с абдоминальной стороны листа. Перед началом измерений образцы адаптировали к темноте в течение 10 мин.

Измерения флуоресценции. Флуоресценцию хлорофилла (Хл) регистрировали с помощью РАМ-флуориметра модели FluorPen FP100 (Photon Systems Instruments, Чешская республика), как было описано ранее [25–30]. Спектры непрерывного действующего (“актиничного”) света и измерительного импульсного света имели максимум при 475 нм и полуширину $\Delta\lambda_{1/2} = 25$ нм. Перед нача-

лом измерений лист предварительно освещали актиничным светом в течение 1 мин (для стандартизации условий опыта), а затем выдерживали в темноте в течение 10 мин. Параметры кривых индукции флуоресценции Хл *a* определяли согласно стандартным протоколам, описанным в работах [36–39].

Характерные кривые быстрой индукции флуоресценции (БИФ) Хл *a* листьев *C. sativus* и *C. melo*, акклимированных к сильному или умеренному свету, представлены на рис. 2. Эти кривые показывают, как изменяется интенсивность флуоресценции во время действия вспышки света длительностью 2 с (световой поток 3000 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$). Все кривые БИФ имеют характерные особенности (перегибы и локальные экстремумы), обозначенные символами О, J, I и Р. Параметр F_0 — начальный уровень флуоресценции Хл *a* листьев, адаптированных к темноте. F_m — максимальный уровень флуоресценции, измеренной в ответ на действие насыщающего импульса света в листе, адаптированном к темноте (10 мин). Отношение $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (параметр вариабельной флуоресценции) служит мерой максимальной фотохимической активности ФС2 (относительным квантовым выходом) в листьях, адаптированных к темноте [37–39].

Для регистрации кинетики медленной индукции флуоресценции (МИФ) включали непрерывный свет ($\lambda_{\text{макс}} = 475$ нм), называемый актиничным (действующим) светом (actinic light). Интенсив-

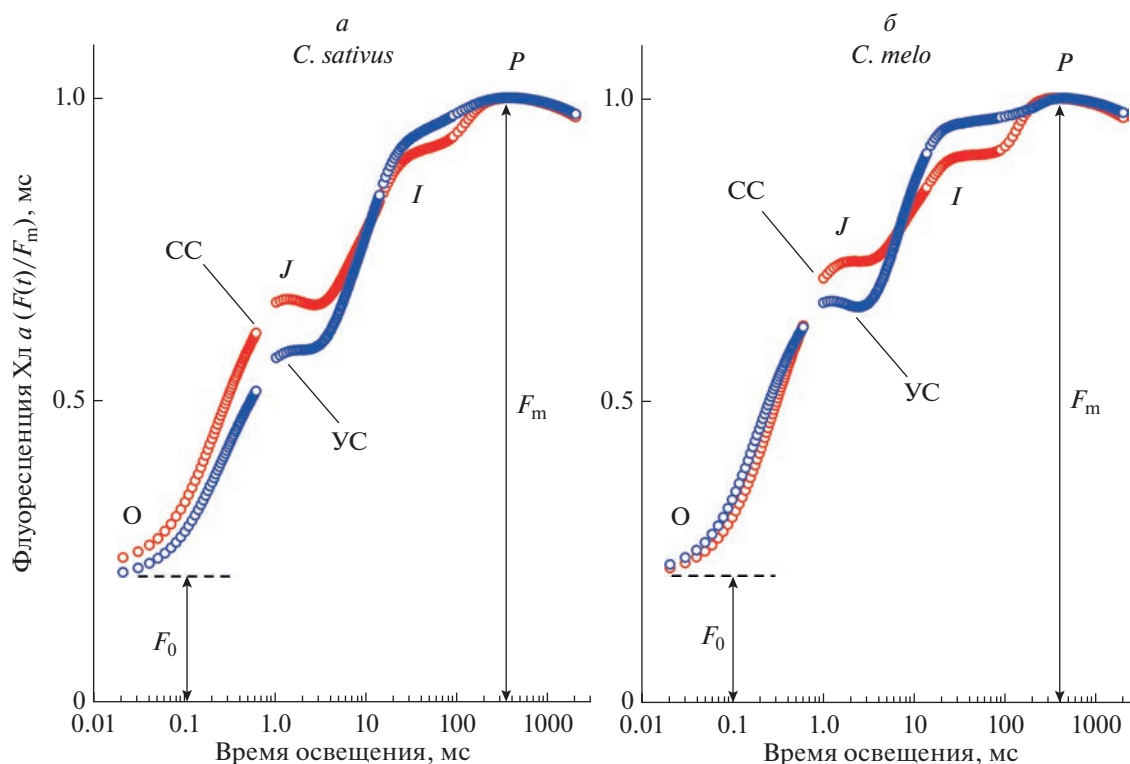


Рис. 2. Типичные кинетические кривые быстрой индукции флуоресценции листьев растений *C. sativus* (а) и *C. melo* (б).

ность актиничного света составляла $800 \text{ мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, его продолжительность могли варьировать пределах от 2.5 до 7 мин. На фоне актиничного света периодически включали короткие вспышки насыщающего импульсного света. Для измерения динамики светоиндуцированных изменений коэффициента нефотохимического тушения (НФТ) флуоресценции использовали специальный протокол LC3, предусмотренный в настройках прибора FluorPen FP100. Согласно этому протоколу, образец освещали импульсами действующего (actinic) света длительностью, равной 1 мин, следующими с возрастающей интенсивностью: 10, 20, 50, 100, 300, 500 и 1000 $\text{мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ соответственно (см. подробнее рис. 5).

Электронный парамагнитный резонанс. Наблюдая за изменениями сигнала ЭПР от окисленных центров P_{700}^+ , мы следили за функционированием ФС1 в хлоропластах *in situ* (высечки из листьев) [40, 41]. Образец (кусочек листа размерами $4 \times 25 \text{ мм}$) закрепляли в хорошо вентилируемом пластиковом держателе и помещали в резонатор спектрометра ЭПР модели E-4 (Varian, США). Микроволновая мощность составляла 10 мВт, амплитуда ВЧ-модуляции была равна 0.4 мТ. Образцы освещали белым светом (БС, 320 Вт м^{-2}) или сравнительно слабым красным светом (КС, $\lambda_{\text{макс}} =$

650 нм , $\Delta\lambda_{1/2} = 8 \text{ нм}$, интенсивность $\approx 8 \text{ Вт м}^{-2}$), возбуждающим обе фотосистемы, или сравнительно слабым дальним красным светом (ДКС, $\lambda_{\text{макс}} = 707 \text{ нм}$, $\Delta\lambda_{1/2} = 5 \text{ нм}$, 8 Вт м^{-2}), возбуждающим преимущественно ФС1. В качестве светофильтров, с помощью которых выделяли КС и ДКС из белого света, использовали интерференционные фильтры фирмы Karl Zeiss Yena (Германия). За кинетикой редокс-превращений P_{700} следили по величине низкополевого экстремума первой производной сигнала ЭПР от P_{700}^+ . Особенности регистрации сигналов ЭПР в листьях растений подробно описаны в работе [40].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индукция флуоресценции хлорофилла а

Быстрая индукция флуоресценции (БИФ). Приведенные на рис. 2 кривые БИФ были получены на листьях *C. sativus* (рис. 2а) и *C. melo* (рис. 2б), произрастающих сравнительно небольшое время (около месяца) в условиях сильного или умеренного освещения. Все кинетические кривые нормированы на максимальную величину сигнала F_m . Эти кривые имеют общие закономерности: в ответ на насыщающую вспышку света ($\lambda_{\text{макс}} = 475 \text{ нм}$), подаваемую на лист, адаптированный к темноте, флуоресценция Хл а быстро достигает начального

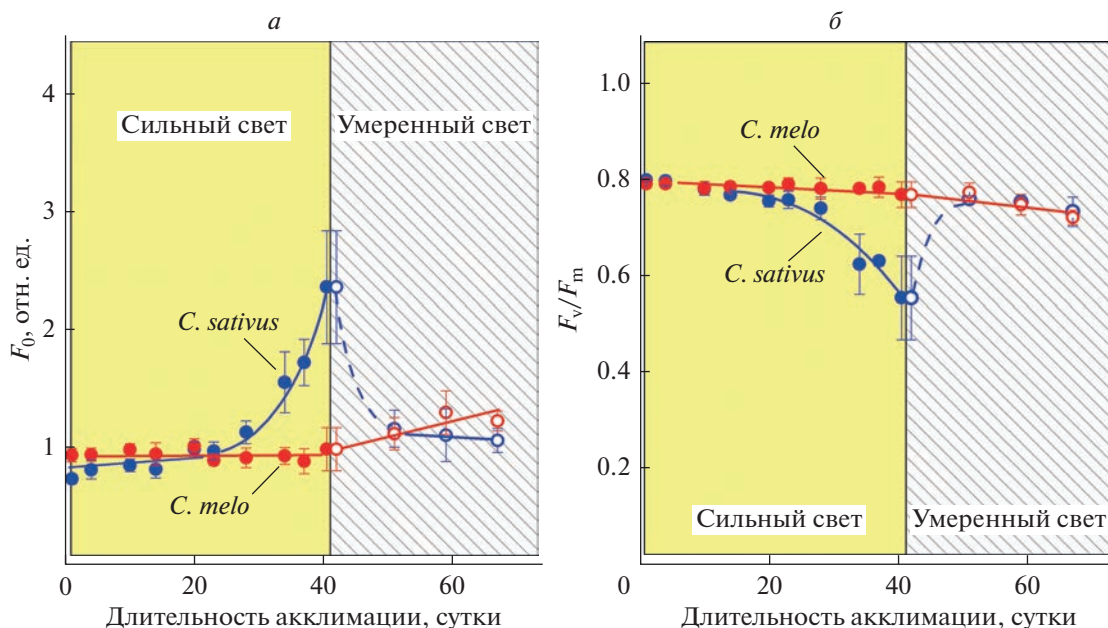


Рис. 3. Влияние длительности акклимации к свету сильной и умеренной интенсивности на значения параметров F_0 и F_v/F_m в листьях исследуемых растений. Приведены средние значения ($n = 6-8$) $\pm$ стандартные отклонения.

уровня F_0 , а затем растет до максимального уровня Р, характеризуемого параметром F_m , проходя через точки перегиба, отмеченные символами J и I. После достижения максимального уровня Р (за время ≈ 1 с) наблюдается небольшой спад флуоресценции. Согласно [36, 39, 42, 43], стадия роста О–J отражает восстановление первичного пластохинона PQ_A , прочно связанного с ФС2. Следующая стадия роста флуоресценции (участок J–I–Р), называемая тепловой фазой [42, 43], отражает восстановление вторичного пластохинона PQ_B ($PQ_A \rightarrow PQ_B$) и дальнейший перенос электронов в ЦЭТ между ФС2 и ФС1. Определенный вклад в тепловую фазу может вносить перераспределение поглощенной энергии между ФС2 и ФС1 (явление, получившее название state transitions) [44]. Сравнивая кривые БИФ в листьях *C. sativus* и *C. melo* для растений, акклимированных к сильному или умеренному свету, можно заметить общую закономерность: в листьях обоих видов растений, акклимированных к сильному свету, экстремум J был несколько выше, чем у растений, произрастающих при умеренном освещении. В случае экстремума I наблюдалась обратная ситуация.

Как показали наши исследования, параметры начальной (F_0) и вариательной ($F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$) флуоресценции могут изменяться в ходе акклимации растений, что было особенно заметно в случае теневыносливого вида *C. sativus*. На рис. 3 показаны зависимости параметров F_0 (рис. 3а) и F_v/F_m (рис. 3б) от длительности аккли-

мации растений. Нами были проведены наблюдения за этими показателями для листьев *in vivo* (без отрыва листьев от стебля) при акклимации растений (более 2 месяцев), начиная с молодого возраста растений, когда уже сформировались листовые пластинки. Сначала в течение 40 суток растения росли на сильном свету ($850-1000$ мкмоль фотонов $m^{-2} s^{-1}$), затем их помещали в камеру с умеренным светом ($50-125$ фотонов $m^{-2} s^{-1}$) того же спектрального состава. Из рис. 3а видно, что у растений теневыносливого вида (*C. sativus*) параметр F_0 в течение первых 24 суток роста на сильном свету практически не изменялся, но затем начал увеличиваться. Заметный рост F_0 , наблюдавшийся для листьев растений *C. sativus*, акклимируемых к сильному освещению, был обратимым. После ослабления света на 42-е сутки параметр F_0 вернулся к исходному уровню. Обратимые изменения параметра F_0 в листьях *C. sativus* могут отражать процессы структурно-функциональной реорганизации их ФСА в ходе акклимации растений к свету высокой интенсивности. При выращивании растений светолюбивого вида (*C. melo*) заметных изменений параметра F_0 не наблюдали. Небольшие изменения F_0 после акклимации растений на умеренном свету не являются статистически значимыми. Это означает, что акклимация световыносливого растения *C. melo* к сильному свету не приводит к заметным изменениям ФСА.

Межвидовое различие в динамике изменений F_0 характерно также для вариательной флуоресценции, $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$. Из рис. 3б видно,

что в листьях светолюбивого вида *C. melo* отношение F_v/F_m оставалось приблизительно на одном и том же уровне для растений, культивируемых при двух интенсивностях света. Однако в листьях теневыносливого вида *C. sativus* отношение F_v/F_m начинает заметно уменьшаться после 24 дней акклимации к сильному свету. Падение отношения F_v/F_m отражает уменьшение фотохимической активности ФС2. Этот эффект обратим: после ослабления интенсивности света отношение F_v/F_m возвращается к исходному значению $F_v/F_m \approx 0.78$, характерному для растений, произрастающих при умеренных интенсивностях света (рис. 3б). Обратимость эффекта ослабления F_v/F_m на сильном свету может свидетельствовать о функциональной гибкости ФСА листьев вида *C. sativus* — фотохимическая активность ФС2 хлоропластов сравнительно быстро (в течение нескольких суток) восстанавливается после ослабления освещенности.

Медленная индукция флуоресценции (МИФ). Описанные выше межвидовые различия в зависимостях параметров F_0 и F_v/F_m от длительности акклимации (рис. 3) наглядно проявляются также при измерениях МИФ (рис. 4). Немонотонная кинетика МИФ описывает изменения флуоресценции Хл *a* в листьях растений, адаптированных к темноте. В ответ на включение достаточно продолжительного актиничного света (десятки секунд — минуты) сначала наблюдается сравнительно быстрый рост флуоресценции (стадия О—Р), а затем обычно наступает ее спад к стационарному (квазистационарному) уровню Т (эффект Каутского [36–39, 42, 43]). Спад флуоресценции может отражать разные процессы: светозависимую активацию ферментов ЦКБ [14, 15], усиление НФТ [45–48], перераспределение электронных потоков (нециклический/циклический транспорт электронов в хлоропластах [49]), рН-зависимую регуляцию электронного транспорта [16–19], перемещение хлоропластов внутри растительной клетки и другие процессы [23]. Кинетика спада флуоресценции, как известно, может варьировать в зависимости от объекта и условий эксперимента [42, 43]. К числу факторов, влияющих на форму кривой МИФ, относятся интенсивность и спектральный состав света, а также длительность акклимации растений.

На рис. 4 приведены типичные кривые МИФ для листьев растений *C. sativus* и *C. melo*, акклимированных к сильному или к умеренному свету в течение 5 недель. Во всех опытах наблюдалось монотонное уменьшение флуоресценции Хл *a* при действии непрерывного актиничного света. Интенсивность актиничного света составляла 800 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, что сравнимо с интенсивностью сильного света, использовавшегося при акклимации растений. В случае листьев *C. sativus* спад кривой МИФ у растений, акклими-

рованных к сильному свету, был более быстрым, чем у растений, акклимированных к умеренному свету (рис. 4а). Аналогичный эффект наблюдался для листьев *C. melo* (рис. 4б), но эффект ускорения спада флуоресценции у растений, акклимированных к сильному свету, был выражен слабее, чем в листьях *C. sativus*. После выключения актиничного света интенсивность флуоресценции, измеряемой при действии слабых зондирующих импульсов, возвращалась к исходному уровню F_0 . На рис. 4 вертикальными стрелками показаны моменты включения насыщающих коротких вспышек света, подаваемых в темноте. Видно, что в ответ на первую вспышку, действующую на адаптированный к темноте (10 мин) лист до включения актиничного света, происходит значительный всплеск флуоресценции (F_m), сменяемый ее спадом к исходному уровню (F_0). После выключения актиничного света в ответ на насыщающие вспышки также наблюдается всплеск флуоресценции (F'_m). Однако в этом случае интенсивность флуоресценции меньше ответа на первую вспышку света, подаваемую после достаточно длительной (10-мин) адаптации образца к темноте ($F'_m < F_m$). Это обусловлено эффектом НФТ флуоресценции, создаваемым в результате действия актиничного света. По мере адаптации образца к темноте после выключения актиничного света ответ на насыщающие вспышки света, отмеченные на рис. 4 стрелками, возрастает. Это связано с ослаблением НФТ в темноте. Заметим, что в листьях растений, акклимированных к сильному свету, ослабление НФТ в темноте, проявляющееся как увеличение параметра F'_m , происходит быстрее, чем в листьях, акклимированных к умеренному свету.

Нефотохимическое тушение флуоресценции (НФТ). На рис. 5 и 6 представлены результаты опытов, на основании которых были определены коэффициенты НФТ в листьях *C. sativus* и *C. melo*, измеренные при различных интенсивностях актиничного света. Протокол измерений предусматривает, что адаптированный к темноте (10 мин) образец освещается в течение 7 мин серией импульсов актиничного света ($\lambda_{\text{макс}} = 475 \text{ нм}$) длительностью 1 мин; при этом интенсивность актиничного света последовательно возрастает вплоть до 1000 мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, как это указано на рис. 5. Видно, что по мере увеличения интенсивности актиничного света выход флуоресценции (параметр F'_m) в ответ на короткие интенсивные вспышки света (3000 мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) уменьшался. Уменьшение F'_m , как известно, обычно связывают с усилением НФТ флуоресценции Хл *a*. При использовании протокола измерений флуоресценции в опытах, результаты которых по-

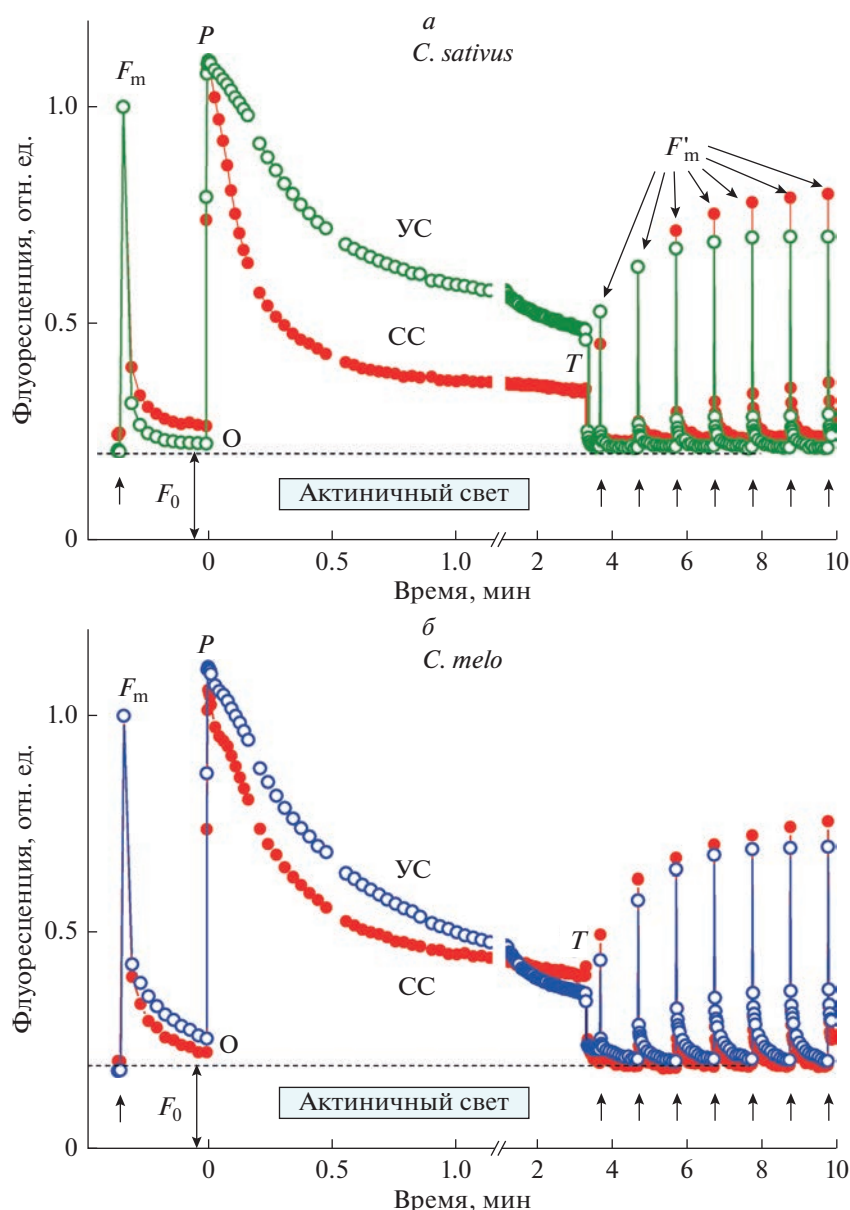


Рис. 4. Кинетика фотоиндуцированных изменений выхода флуоресценции Хл *a* во время действия непрерывного актиничного света ($\lambda_{\text{макс}} = 475$ нм, $800 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$) в листьях растений *C. sativus* (а) и *C. melo* (б), акклимизированных в течение 5 недель к сильному (СС) или умеренному (УС) свету. Перед началом измерений флуоресценции листья были адаптированы к темноте в течение 10 мин. Стрелками показаны моменты включения коротких (1 с) насыщающих вспышек света.

казаны на рис. 5, мы вычисляли коэффициент НФТ, равный $(F_m - F'_m)/F_m$. Этот параметр может быть отнесен к быстрой (~ 1 мин) компоненте НФТ, обычно называемой энергетической компонентой q_E , которая обусловлена генерацией транс-тилакоидной разности pH (ΔpH) [45–48].

Из приведенных на рис. 6 данных следует, что в акклимизированных к сильному свету листьях теневыносливого вида *C. sativus* значение параметра q_E было заметно больше, чем в случае рас-

тений этого же вида, акклимизированных к умеренному свету. Это означает, что в ходе акклимации к сильному свету у ФСА листьев *C. sativus* усиливается способность противостоять окислительному стрессу при избытке света; это происходит за счет усиления НФТ, ослабляющего фотохимическую активность ФС2. Способность ФСА к усилению НФТ, как известно, коррелирует с увеличением экспрессии регуляторного белка PsbS при акклимации растений к сильному свету [23, 27, 34, 45, 46]. В случае листьев светолюбивого ви-

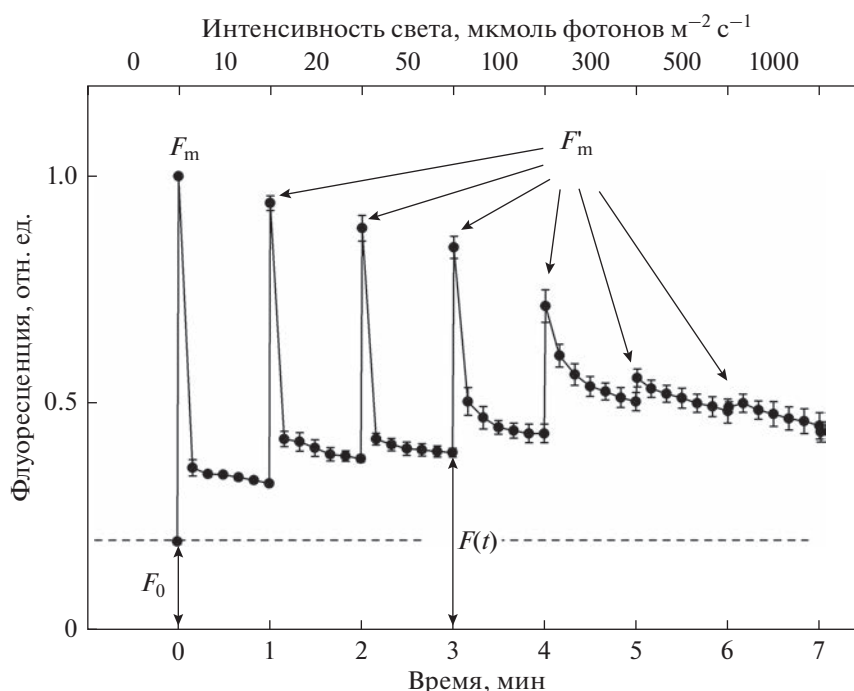


Рис. 5. Кинетика изменений выхода флуоресценции хлорофилла *a* в листьях *C. sativus*, акклимизированных в течение 5 недель к умеренному свету, при их освещении серией импульсов актиничного света ($\lambda_{\text{макс}} = 475$ нм) длительностью 1 мин различной интенсивности. Приведены средние значения ($n = 4$) $\pm$ стандартное отклонение.

да *C. melo* (дыня) различие значений q_E в листьях растений, акклимизированных к сильному и умеренному свету, выражено гораздо слабее, чем для теневыносливого вида *C. sativus* (огурец).

Электронный парамагнитный резонанс

Различие в фотосинтетических характеристиках листьев двух контрастных в отношении теневыносливости видов рода *Cucumis* (*C. sativus* и *C. melo*) проявляется и в кинетике редокс-превращений реакционных центров P_{700} . На рис. 7 показаны типичные кривые фотоиндуцированных изменений интенсивности сигнала ЭПР от P_{700}^+ в листьях растений, адаптированных к темноте в течение 10 мин. В ответ на включение белого света, возбуждающего обе фотосистемы, сигнал ЭПР от P_{700}^+ возрастает, достигая стационарного (квазистационарного) уровня. В листьях растений, адаптированных к темноте, как правило, наблюдается многофазная кинетика роста сигнала ЭПР [50]. Сразу после включения БС происходит небольшой скачок сигнала (A_0), затем наблюдается сравнительно медленный рост сигнала к стационарному уровню (рис. 7). Замедление роста концентрации P_{700}^+ обусловлено тем, что после адаптации листа к темноте ферменты ЦКБ инактивируются [8], а потому NADPH сначала по-

требуется медленно; вследствие избытка NADPH затрудняется отток электронов от ФС1 к NADP^+ . В то же время сохраняется приток электронов к ФС1 от ФС2, благодаря чему на начальных стадиях освещения уровень P_{700}^+ может отличаться от стационарного уровня $A_{\text{БС}}$. По мере освещения хлоропластов активируются реакции ЦКБ, а потому отток электронов от ФС1 ускоряется. При этом уменьшается приток электронов от ФС2 к P_{700}^+ , что происходит в результате закисления люмена и ослабления активности ФС2 вследствие усиления НФТ возбужденных состояний хлорофилла в светособирающей антенне ФС2. Наряду с этими изменениями, в хлоропластах может происходить перераспределение части энергии, поглощаемой антенной ФС2, в пользу ФС1 (переход состояние 1 $\rightarrow$ состояние 2) и перераспределение электронных потоков (нециклический/циклический транспорт электронов) в пользу нециклического потока [51, 52]. Все это должно способствовать росту сигнала ЭПР от P_{700}^+ .

Кинетика окисления P_{700} под действием непрерывного БС зависит от вида растений и условий их акклимации. Из рис. 7а видно, что в акклимизированных к умеренному свету листьях *C. sativus* сразу после включения БС наблюдается быстрый скачок сигнала (фаза A_0), вслед за этим концентрация P_{700}^+ монотонно возрастает до ста-

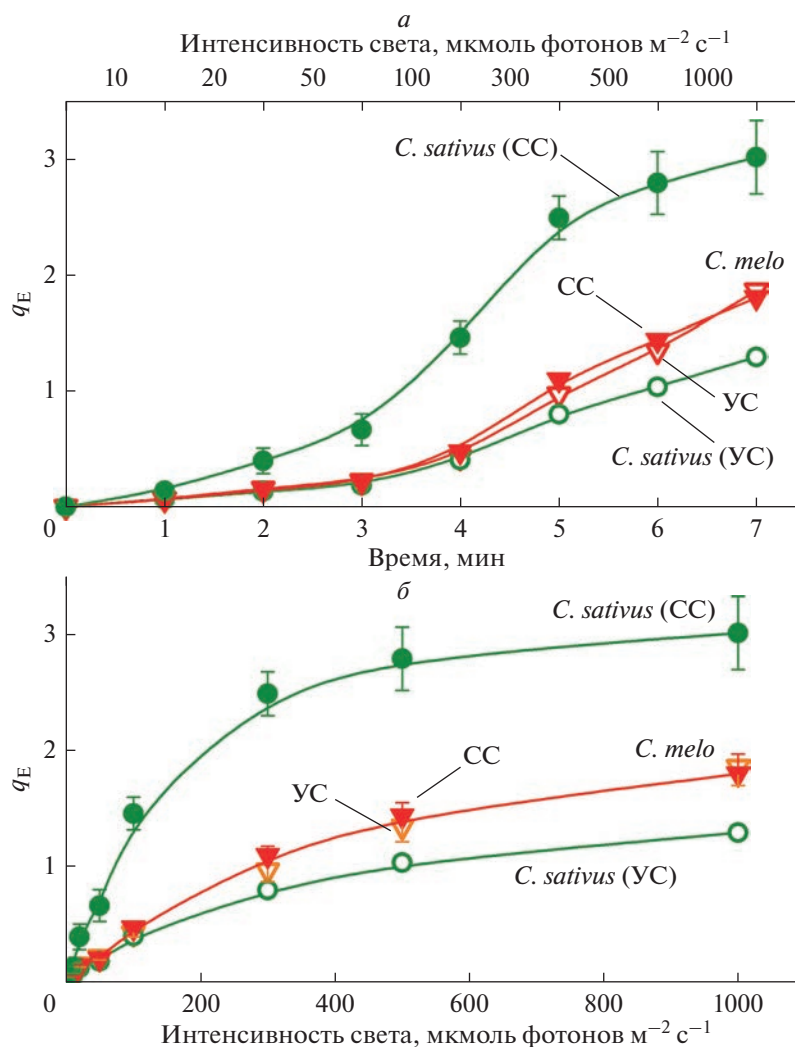


Рис. 6. Влияние интенсивности актиничного света на коэффициент нефотохимического тушения q_E , определяемый при действии серии импульсов актиничного света ($\lambda_{\text{макс}} = 475 \text{ nm}$) длительностью 1 мин возрастающей интенсивности. *a* – Кинетика нарастания q_E ; *б* – зависимость q_E от интенсивности актиничного света. Приведены средние значения ($n = 4$) $\pm$ стандартное отклонение.

ционного уровня $A_{\text{БС}}$. В листьях растений, акклимированных к сильному свету, после начального скачка сигнала до уровня A_0 , концентрация P_{700}^+ плавно возрастает до промежуточного уровня A_1 , а затем, после определенной лаг-фазы, сигнал достигает стационарного уровня $A_{\text{БС}}$. Интересно, что в листьях обоих видов растений (огурцы и дыни), акклимированных к умеренной освещенности, фотоокисление P_{700} происходит быстрее, чем у растений, акклимированных к сильному свету. В листьях дыни, акклимированной к сильному свету (рис. 7б), так же, как и в листьях огурца (рис. 7б), наблюдается заметная лаг-фаза в кинетике роста сигнала от P_{700}^+ .

Причины различий в кинетике фотоокисления P_{700} в листьях растений, акклимированных к

сильному и умеренному свету, пока остаются невыясненными. Можно предположить, что одной из причин задержки роста сигнала (лаг-фаза) у растений, акклимированных к СС, является увеличение вклада циклического электронного транспорта (ЦЭТ) вокруг ФС1, благодаря которому электроны возвращаются с акцепторного участка ФС1 к P_{700}^+ , что замедляет кинетику роста сигнала ЭПР от P_{700}^+ . Считается, что вклад ЦЭТ проявляется на начальных этапах освещения листьев, адаптированных к темноте [51–53], когда ЦКБ неактивен. Можно предположить, что в результате акклимации к сильному свету вклад ЦЭТ вокруг ФС1 возрастает. По мере активации ферментов ЦКБ отток электронов от ФС1 в ЦКБ усиливается, а потому относительный вклад циклического

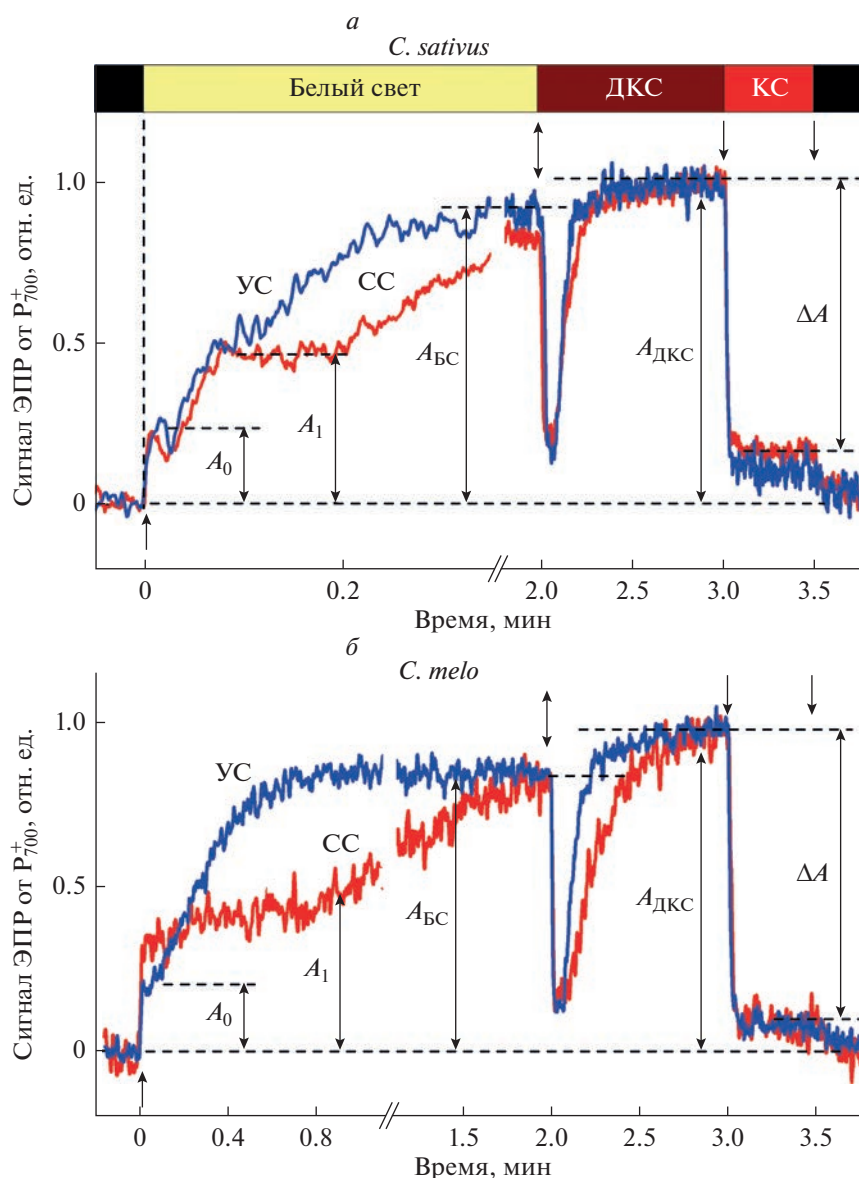


Рис. 7. Кинетика фотоиндуцированных изменений сигнала ЭПР от P_{700}^+ . После предварительного освещения образца белым светом в течение 1 мин (для стандартизации условий эксперимента), образец адаптировали к темноте в течение 10 мин. Затем включали белый свет (БС), через 2 мин БС переключали на дальний красный свет (ДКС, $\lambda_{\text{макс}} = 707$ нм), который затем переключали на красный свет (КС, $\lambda_{\text{макс}} = 650$ нм). Кинетические кривые нормированы на величину сигнала АДКС, индуцируемого при действии дальнего КС (ДКС). СС и УС — образцы растений, акклимированных к сильному и умеренному свету, соответственно.

транспорта в работу ЦЭТ ослабевает и сигнал ЭПР от P_{700}^+ начинает возрастать.

Отметим, что могут быть другие факторы, объясняющие появление характерной лаг-фазы, наблюдаемой у растений, акклимированных к сильному свету. Можно предположить, что лаг-фаза связана с более медленным переходом состояние 1 → состояние 2 у растений, выращиваемых на сильном свете. Не исключено, что это может быть вызвано изменениями в структурно-функ-

циональной организации ФС2, происходящими в ходе акклимации растений к сильному свету.

Сравнивая два вида растений рода *Cucumis*, мы обнаруживаем, что скорость фотоокисления P_{700} в листьях *C. melo* была ниже, чем в листьях *C. sativus*. Например, время полуокисления P_{700} ($\tau_{1/2}$) у *C. sativus*, акклимированных к слабому свету, составляло 0.1 мин, что вдвое меньше, чем у *C. melo*, выращенных при той же освещенности. Можно предположить, что это различие может быть обусловлено разным соотношением электрон-транс-

портных переносчиков и некоторыми особенностями метаболизма у этих двух видов растений.

После переключения БС на сравнительно слабый дальний красный свет (ДКС, $\lambda_{\text{макс}} = 707 \text{ нм}$), возбуждающий преимущественно ФС1, концентрация P_{700}^+ сначала падает, но затем монотонно возрастает до уровня $A_{\text{ДКС}}$. Падение сигнала после хроматического перехода БС $\rightarrow$ ДКС объясняется быстрым притоком электронов к P_{700}^+ (через цитохромный b_6f -комплекс и пластоцианин) от пула восстановленных переносчиков (это в основном молекулы пластохинола), накопившихся в ЭТЦ между ФС2 и ФС1 во время действия БС. Время полуспада сигнала от P_{700}^+ составляет $t_{1/2} \sim 5\text{--}30 \text{ мс}$ (в зависимости от длительности действия БС)³. Эти сравнительно короткие времена соответствуют переносу электронов от пластохинола к P_{700}^+ [54–57]. В дальнейшем, после реокисления переносчиков на участке между ФС2 и ФС1 за счет работы ФС1, сигнал от P_{700}^+ возрастает до уровня $A_{\text{ДКС}}$.

После следующего хроматического перехода ДКС $\rightarrow$ красный свет (КС, $\lambda_{\text{макс}} = 650 \text{ нм}$) происходит значительное уменьшение сигнала на величину ΔA , что обусловлено притоком электронов от ФС2 к ФС1, поскольку КС эффективно возбуждает обе фотосистемы. Интенсивность КС, возбуждающего ФС2 к ФС1, сопоставима с интенсивностью ДКС. Этого достаточно, чтобы обеспечить приток электронов от ФС2 к ФС1, но не хватает для поддержания высокого уровня P_{700}^+ . Параметр $\Delta A/A_{\text{ДКС}}$ может служить показателем эффективности работы ФС2. После выключения КС все центры P_{700}^+ восстанавливаются за счет притока электронов от эндогенных доноров [57, 58].

Соотношение сигналов от P_{700}^+ , индуцированных действием БС и ДКС (отношение $A_{\text{БС}}/A_{\text{ДКС}}$), зависит от условий акклимации растений. При длительной акклимации к сильному свету отношение $A_{\text{БС}}/A_{\text{ДКС}}$ возрастает, что может свидетельствовать об усилении относительного вклада циклического транспорта электронов вокруг ФС1 в процессы электронного переноса с участием ФС1.

Величина сигнала ЭПР от P_{700}^+ оказывается чувствительной к условиям произрастания растений. На рис. 8а показано, как амплитуда сигнала от P_{700}^+ , индуцируемого дальним красным светом в листьях *C. sativus* ($\lambda_{\text{макс}} = 707 \text{ нм}$, параметр $A_{\text{ДКС}}$), изменялась со временем акклимации растений. Обращает на себя внимание тот факт, что в ли-

стьях растений, освещавшихся сильным светом, по мере акклимации растений наблюдалось снижение величины сигнала. После 22 суток акклимации величина сигнала резко уменьшилась. Мы предполагаем, что это могло происходить вследствие светового стресса, повреждающего ФСА теневыносливого растения *C. sativus*. Действительно, при акклимации этого растения к умеренному свету за все время опыта значительного снижения сигнала ЭПР не наблюдалось.

В случае светолюбивого вида *C. melo* (рис. 8б) наблюдалась тенденция, обратная той, которую мы обнаружили для листьев теневыносливого вида *C. sativus*. При акклимации *C. melo* к сильному свету в течение первых 22 суток параметр $A_{\text{ДКС}}$ практически не менялся. При более длительной акклимации происходило уменьшение $A_{\text{ДКС}}$. В случае умеренной интенсивности света заметное падение $A_{\text{ДКС}}$ наблюдалось с самого начала акклимации. Это могло быть обусловлено как физиологическими причинами (уменьшение числа фотосинтетических комплексов), так и приборными эффектами, связанными с возможными анатомическими изменениями в листьях *C. melo*. Можно предположить, например, что по мере акклимации листьев *C. melo* их толщина и/или содержание влаги внутри листьев могли увеличиваться, что должно было бы способствовать росту диэлектрических потерь изучаемых образцов и, как следствие, приводить к уменьшению величины измеряемого сигнала ЭПР.

Описанные выше межвидовые различия в кинетике фотоиндуцированных превращений P_{700} в листьях *C. sativus* и *C. melo*, акклимированных к сильному или к умеренному свету, могут быть обусловлены разными регуляторными факторами, такими как деактивация/активации реакций ЦКБ и других метаболических процессов, усиление НФТ, ионная регуляция электронного транспорта между ФС2 и ФС1 за счет изменений pH внутри тилакоидов и в строме (pH_{in} и pH_{out}), “архитектурные” изменения в хлоропластах (переходы типа состояние 1 $\leftrightarrow$ состояние 2) и другие процессы (см. обзоры [58–63]). Выяснение структурно-функциональных изменений ФСА (включая соотношение антенных комплексов ФС1 и ФС2) и механизмов регуляции фотосинтеза при акклимации растений требует дальнейших исследований. Отметим сложный и не всегда однозначный характер изменений ФСА при акклимации растений. Так, например, при акклимации некоторых видов растений к сильному свету возрастает содержание ферментов ЦКБ, но при этом снижается относительное содержание комплексов ФС2 (см., например, работы [63, 64] и цитируемую в них литературу). Этим, вероятно, можно объяснить тот факт, что результаты исследований регуляторных процессов фотосинтеза разными мето-

³ Скорость восстановления P_{700}^+ измеряли оптическим методом, по разности поглощения света при 830 и 875 нм (методика описана в [57]).

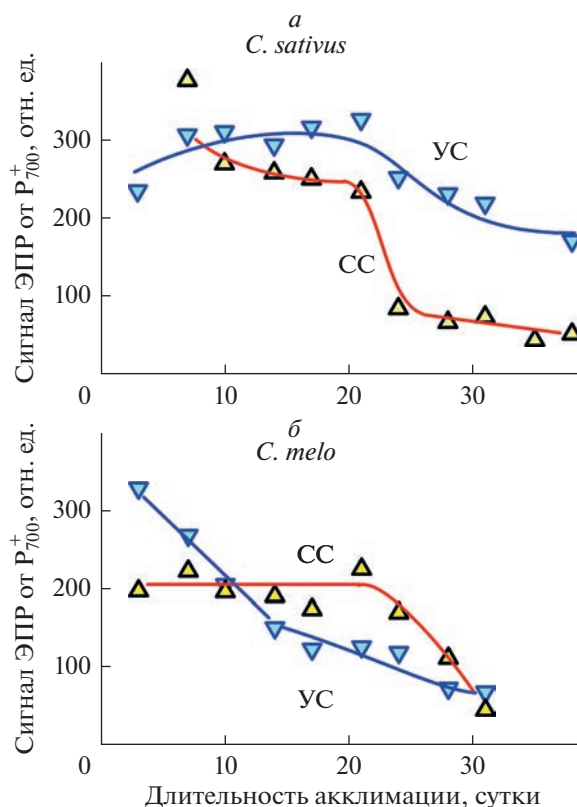


Рис. 8. Влияние длительности акклимации растений к сильному (СС) и умеренному (УС) свету на величину сигнала ЭПР от P_{700}^+ , индуцируемого дальним красным светом с $\lambda_{\text{макс}} = 707$ нм.

дами (флуоресцентный анализ, ЭПР) могут быть интерпретированы по-разному.

Помимо изменений в структурно-функциональной организации ЭТЦ хлоропластов и взаимодействия их с другими метаболическими системами (митохондрии, малатный шунт, реакции ЦКБ), определенную роль в явлениях, связанных с условиями акклимации, и в повышении устойчивости растений к стрессовым факторам (избыточный свет), может играть антиоксидантная система защиты ФСА, а также влияние гормонального статуса растений (см., например, работы [8, 47–49, 60, 65–69]). Эти факторы, как правило, проявляются наиболее заметно у светолюбивых видов растений [28, 63], которые должны оперативно реагировать на значительные изменения естественных условий освещения, чтобы избежать повреждений ФСА в результате светового стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительное исследование листьев двух видов рода *Cucumis*, различающихся по светочувствительности, показало различие в динамике изменений фотосинтетических показателей теневыносливых (*C. sativus*) и светолюбивых (*C. melo*)

видов при длительной акклимации растений к свету сильной и умеренной интенсивности. Закономерности, характерные для МИФ и редокс-превращений P_{700} в листьях растений, выращенных на сильном и умеренном свете, отражают тот факт, что при акклимации растений к сильному свету у них вырабатывается способность быстрее реагировать на смену условий освещения: чем быстрее растения будут реагировать на усиление освещенности, тем успешнее они будут противостоять световому стрессу. Изучая кинетику МИФ, мы установили, что в листьях растений, выросших на сильном свете, флуоресценция в ходе МИФ спадает быстрее, чем в листьях растений, выросших при умеренной интенсивности света. Это является отражением того, что у растений, акклиматизированных к сильному свету, усиливается способность быстрее реагировать на смену условий освещения: чем быстрее растения реагируют на усиление освещенности, тем выше их устойчивость к световому стрессу. После акклимации растений к сильному свету удлиняется лаг-фаза на стадии роста сигнала P_{700}^+ на белом свете, что, вероятно, обусловлено увеличением вклада циклического транспорта электронов вокруг ФС1. Это может способствовать оптимизации энерге-

тического баланса и ослаблять световой стресс при избытке освещения.

Благодарности. Авторы признательны В.В. Птушенко за любезно предоставленный осветительный прибор и ценные консультации по вопросам физиологии растений.

Вклад авторов. М.А. Беньков — проведение долгосрочных опытов по измерению флуоресцентных характеристик листьев. И.С. Сусличенко — флуоресцентные измерения и получение данных методом ЭПР. Б.В. Трубицин — приборное обеспечение работы и ЭПР-измерения. А.Н. Тихонов — общий план работы, анализ литературных данных, подготовка графических материалов, написание статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-20047).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nelson N., Yocum C.F., 2006. Structure and function of photosystems I and II. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **57**, 521–565.
- Tikhonov A.N. 2014. The cytochrome *b₆f* complex at the crossroad of photosynthetic electron transport pathways. *Plant Physiol. Biochem.* **81**, 163–183.
- Mamedov M., Govindjee, Nadtochenko V., Semenov A. 2015. Primary electron transfer processes in photosynthetic reaction centers from oxygenic organisms. *Photosynth. Res.* **125**, 51–63.
- Malone L.A., Proctor M.S., Hitchcock A., Hunter C.N., Johnson M.P. 2021. Cytochrome *b₆f* – Orchestrator of photosynthetic electron transfer. *Biochim. Biophys. Acta.* **1862**, 148380. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2021.148380>
- Höhner R., Pribil M., Herbstová M., Lopez L.S., Kunz H.-H., et al. 2020. Plastocyanin is the long-range electron carrier between photosystem II and photosystem I in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **117**, 15354–15362.
- Junge W., Nelson N. 2015. ATP synthase. *Annu. Rev. Biochem.* **83**, 631–657.
- Романовский Ю.М., Тихонов А.Н. 2010. Молекулярные преобразователи энергии живой клетки. Протонная АТР-синтаза — вращающийся молекулярный мотор. *Успехи физических наук*, **180**, 931–956.
- Эдвардс Дж., Уокер Д. 1986. *Фотосинтез С3 и С4 растений: механизмы и регуляция*. М.: Мир. 598 с.
- Allakhverdiev S.I., Murata N. 2004. Environmental stress inhibits the synthesis *de novo* of proteins involved in the photodamage-repair cycle of photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta.* **1657**, 23–32.
- Kono M., Terashima I. 2014. Long-term and short-term responses of the photosynthetic electron transport to fluctuating light. *J. Photochem. Photobiol. B.* **137**, 89–99.
- Berry J., Björkman O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **31**, 491–543.
- Allakhverdiev S.I., Kreslavski V.D., Klimov V.V., Los D.A., Carpentier R., Mohanty P. 2008. Heat stress: An overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynth. Res.* **98**, 541–550.
- Tikhonov A.N., Vershubskii A.V. 2020. Temperature-dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts *in vitro* and *in silico*. *Photosynth. Res.* **146**, 299–329.
- Michelet L., Zaffagnini M., Morisse S., Sparla F., Pérez-Pérez M.E., Francia F., Danon A., Marchand C.H., Fermani S., Trost P., Lemaire S.D. 2013. Redox regulation of the Calvin-Benson cycle: Something old, something new. *Front. Plant Sci.* **4**. Article 470. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00470>
- Balsera M., Schumann P., Buchanan B.B. 2016. Redox regulation in chloroplasts. In: *Chloroplasts. Current research and future trends*. Ed. Kirchhoff H. Norfolk, UK: Caister Academic Press, p. 187–207.
- Rumberg B., Siggel U. 1969. pH changes in the inner phase of the thylakoids during photosynthesis. *Naturwissenschaften.* **56**, 130–132.
- Kramer D.M., Sacksteder C.A., Cruz J.A. 1999. How acidic is the lumen? *Photosynth. Res.* **60**, 151–163.
- Tikhonov A.N. 2013. pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts. *Photosynth. Res.* **116**, 511–534.
- Schansker G. 2022. Determining photosynthetic control, a probe for the balance between electron transport and Calvin-Benson cycle activity, with the DUAL-KLAS-NIR. *Photosynth. Res.* **153**, 191–204.
- Lemeille S., Rochaix J.-D. 2010. State transitions at the crossroad of thylakoid signalling pathways. *Photosynth. Res.* **106**, 33–46.
- Lichtenthaler H.K., Babani F. 2004. Light adaptation and senescence of the photosynthetic apparatus. Changes in pigment composition, chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic activity. In: *Chlorophyll a Fluorescence*. Springer, p. 713–736.
- Lichtenthaler H.K., Babani F., Navrátil M., Buschmann C. 2013. Chlorophyll fluorescence kinetics, photosynthetic activity, and pigment composition of blue-shade and half-shade leaves as compared to sun and shade leaves of different trees. *Photosynth. Res.* **117**, 355–366.
- Puthiyaveetil S., Kirchhoff H., Höhner R. 2016. Structural and functional dynamics of the thylakoid membrane system. In: *Chloroplasts. Current research and fu-*

- ture trends. Ed. Kirchhoff H. Norfolk, UK: Caister Academic Press, p. 59–87.
24. Demmig-Adams B. 1998. Survey of thermal energy dissipation and pigment composition in sun and shade leaves. *Plant Cell Physiol.* **39**, 474–482.
 25. Samoilova O.P., Ptushenko V.V., Kuvykin I.V., Kiselev S.A., Ptushenko O.S., Tikhonov A.N. 2011. Effects of light environment on the induction of chlorophyll fluorescence in leaves: A comparative study of *Tradescantia* species of different ecotypes. *BioSystems.* **105**, 41–48.
 26. Ptushenko V.V., Ptushenko E.A., Samoilova O.P., Tikhonov A.N. 2013. Chlorophyll fluorescence in the leaves of *Tradescantia* species of different ecological groups: Induction events at different intensities of actinic light. *BioSystems.* **114**, 85–97.
 27. Mishanin V.I., Trubitsin B.V., Benkov M.A., Minin A.A., Tikhonov A.N. 2016. Light acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species: Induction of chlorophyll *a* fluorescence and P₇₀₀ photooxidation, expression of PsbS and Lhcb1 proteins. *Photosynth. Res.* **130**, 275–291.
 28. Mishanin V.I., Trubitsin B.V., Patsaeva S.V., Ptushenko V.V., Solovchenko A.E., Tikhonov A.N. 2017. Acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species to growth light: Chlorophyll *a* fluorescence, electron transport, and xanthophyll content. *Photosynth. Res.* **133**, 87–102.
 29. Benkov M.A., Yatsenko A.M., Tikhonov A.N. 2019. Light acclimation of shade-tolerant and sun-resistant *Tradescantia* species: photochemical activity of PSII and its sensitivity to heat treatment. *Photosynth. Res.* **139**, 203–214.
 30. Suslichenko I.S., Tikhonov A.N. 2019. Photo-reducible plastoquinone pools in chloroplasts of *Tradescantia* plants acclimated to high and low light. *FEBS Lett.* **593**, 788–798.
 31. Randall R.P. 2012. A global compendium of weeds. 2nd edn. Department of Agriculture and Food, Western Australia, 1125 p.
 32. Лютова М.И., Тихонов А.Н. 1988. Сопоставление температурной зависимости подвижности липидо-растворимой спиновой метки в тилакоидных мембранах хлоропластов дыни и огурца. *Биофизика.* **33**, 460–464.
 33. Tikhonov A.N. 2021. Structure-function relationships in chloroplasts: EPR study of temperature-dependent regulation of photosynthesis, an overview. In: *Photosynthesis: molecular approaches to solar energy conversion*. Eds. Shen J.R., Satoh K., Allakhverdiev S.I. Advances in photosynthesis and respiration. **47**, p. 342–373.
 34. Li Z., Wakao S., Fischer B.B., Niyogi K.K. 2009. Sensing and responding to excess light. *Annu. Rev. Plant Biol.* **60**, 239–260.
 35. Murata N, Takahashi S., Nishiyama Y., Allakhverdiev S.I. 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim. Biophys. Acta.* **1767**, 414–421.
 36. Lazár D. 1999. Chlorophyll *a* fluorescence induction. *Biochim. Biophys. Acta.* **1412**, 1–28.
 37. Baker N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**, 89–113.
 38. Adams W.W. III, Demmig-Adams B. 2004. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. In: *Chlorophyll *a* fluorescence: A signature of photosynthesis. Advances in photosynthesis and respiration*. Eds. Papageorgiou G.C., Govindjee G. Dordrecht: Springer, p. 583–604.
 39. Kalaji H.M., Schansker G., Ladle R.J., Goltsev V., Bosa K., Allakhverdiev S.I., Brestic M., Bussotti F., Calatayud A., Dąbrowski P., Elsheery N.I., Ferroni L., Guidi L., Hogewoning S.W., Jajoo A., Misra A.N., Nebauer S.G., Pancaldi S., Penella C., Poli D., Pollastrini M., Romanowska-Duda Z.B., Rutkowska B., Seródio J., Suresh K., Szulc W., Tambussi E., Yannicari M., Zivcak M. 2014. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: Practical issues. *Photosynth. Res.* **122**, 121–158.
 40. Kuvykin I.V., Ptushenko V.V., Vershoubisky A.V., Tikhonov A.N. 2011. Regulation of electron transport in C3 plant chloroplasts *in situ* and *in silico*. Short-term effects of atmospheric CO₂ and O₂. *Biochim. Biophys. Acta.* **1807**, 336–347.
 41. Trubitsin B.V., Vershubskii A.V., Priklonskii V.I., Tikhonov A.N. 2015. Short-term regulation and alternative pathways of photosynthetic electron transport in *Hibiscus rosa-sinensis* leaves. *J. Photochem. Photobiol. B.* **152**, 400–415.
 42. Stirbet A. 2012. Chlorophyll *a* fluorescence induction: A personal perspective of the thermal phase, the J–I–P rise. *Photosynth. Res.* **113**, 15–61.
 43. Stirbet A., Govindjee G. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and photosystem II: Basics and applications of the *OJIP* fluorescence transient. *J. Photochem. Photobiol. B.* **104**, 236–257.
 44. Schansker G., Tóth S.Z., Strasser R.J. 2006. Dark recovery of the Chl *a* fluorescence transient (*OJIP*) after light adaptation: The *qT*-component of non-photochemical quenching is related to an activated photosystem I acceptor side. *Biochim. Biophys. Acta.* **1757**, 787–797.
 45. Niyogi K.K., Truong T.B. 2013. Evolution of flexible non-photochemical quenching mechanisms that regulate light harvesting in oxygenic photosynthesis. *Curr. Opin. Plant Biol.* **16**, 307–314.
 46. Nilkens M., Kress E., Lambrev P., Miloslavina Y., Müller M., Holzwarth A.R., Jahns P. 2010. Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*. *Biochim. Biophys. Acta.* **1797**, 466–475.

47. Jahns P., Holzwarth A.R. 2012. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta.* **1817**, 182–193.
48. Ruban A.V. 2016. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: Mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiol.* **170**, 1903–1916.
49. Jallet D., Cantrell M., Peers G. 2016. New players for photoprotection and light acclimation. In: *Chloroplasts. Current research and future trends*. Ed. Kirchhoff H. Norfolk, UK: Caister Academic Press, p. 133–159.
50. Tikhonov A.N. 2015. Induction events and short-term regulation of electron transport in chloroplasts: An overview. *Photosynth. Res.* **125**, 65–94.
51. Bendall D.S., Manasse R.S. 1995. Cyclic phosphorylation and electron transport. *Biochim. Biophys. Acta.* **1229**, 23–38.
52. Strand D.D., Fisher N., Kramer D.M. 2016. Distinct energetics and regulatory functions of the two major cyclic electron flow pathways in chloroplasts. In: *Chloroplasts: Current research and future trends*. Ed. Kirchhoff H. Norfolk, UK: Caister Academic Press, p. 89–100.
53. Johnson G.N. 2011. Physiology of PSI cyclic electron transport in higher plants. *Biochim. Biophys. Acta.* **1807**, 906–911.
54. Stiehl H.H., Witt H.T. 1969. Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis. *Z. Naturforsch.* **24b**, 1588–1598.
55. Haehnel W. 1984. Photosynthetic electron transport in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**, 659–693.
56. Bukhov N., Egorova E., Carpentier R. 2002. Electron flow to photosystem I from stromal reductants in vivo: The size of the pool of stromal reductants controls the rate of electron donation to both rapidly and slowly reducing photosystem I units. *Planta.* **215**, 812–820.
57. Suslichenko I.S., Trubitsin B.V., Vershubskii A.V., Tikhonov A.N. 2022. The noninvasive monitoring of the redox status of photosynthetic electron transport chains in *Hibiscus rosa-sinensis* and *Tradescantia* leaves. *Plant Physiol. Biochem.* **185**, 233–243.
58. Eberhard S., Finazzi G., Wollman F.-A. 2008. The dynamics of photosynthesis. *Annu. Rev. Genet.* **42**, 463–515.
59. Demmig-Adams B., Cohu C.M., Muller O., Adams III W.W. 2012. Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: From seconds to seasons. *Photosynth. Res.* **113**, 75–88.
60. Foyer C.H., Neukermans J., Queval G., Noctor G., Harbinson J. 2012. Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression. *J. Exp. Bot.* **63**, 1637–1661.
61. Murchie E.H., Ruban A.V. 2020. Dynamic non-photochemical quenching in plants: From molecular mechanism to productivity. *The Plant J.* **101**, 885–896.
62. Johnson M.P., Wientjes E. 2020. The relevance of dynamic thylakoid organization to photosynthetic regulation. *Biochim. Biophys. Acta.* **1861**, 148039.
63. Ballottari M., Dall'Osto L., Morosinotto T., Bassi R. 2007. Contrasting behavior of higher plant Photosystem I and II antenna systems during acclimation. *J. Biol. Chem.* **282**, 8946–8958.
64. Kouřil, R., Wientjes, E., Bultema, J.B., Croce, R., Boekema, E. J. 2013. Highlight vs. low-light: Effect of light acclimation on photosystem II composition and organization in *Arabidopsis thaliana*. *Biochim. Biophys. Acta.* **1827**, 411–419.
65. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. 2007. *Free radicals in biology and medicine*, fifth ed., Oxford: Oxford University, 2007.
66. Wittkoop T.M., Saroussi S., Yang W., Grossman A.R. 2016. The GreenCut-Functions and relationships of proteins conserved in green lineage organisms. In: *Chloroplasts: Current research and future trends*. Ed. Kirchhoff H. Norfolk, UK: Caister Academic Press, p. 241–278.
67. Borisova-Mubarakshina M.M., Ivanov B.N., Vetoshkina D.V., Lubimov V.Y., Fedorchuk T.P., Naydov I.A., Kozuleva M.A., Rudenko N.N., Dall'Osto L., Cazzaniga S., Bassi R. 2015. Long-term acclimatory response to excess excitation energy: Evidence for a role of hydrogen peroxide in the regulation of photosystem II antenna size. *J. Exp. Bot.* **66**, 7151–7164.
68. Ivanov B.N., Borisova-Mubarakshina M.M., Kozuleva M.A. 2018. Formation mechanisms of superoxide radical and hydrogen peroxide in chloroplasts, and factors determining the signalling by hydrogen peroxide. *Funct. Plant Biol.* **45**, 102–110.
69. Кулаева О.Н. 1982. Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне РНК и белка. М.: Наука, 82 с.

Effects of Plant Acclimation on Electron Transport in Chloroplast Membranes of *Cucumis sativus* and *Cucumis melo*

M. A. Benkov¹, I. S. Suslichenko¹, B. V. Trubitsin¹, A. N. Tikhonov^{1, *}

¹Faculty of Physics, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: an_tikhonov@mail.ru

In this work, we have studied photosynthetic electron transport in chloroplasts of two “contrasting” species of *Cucumis* genus, the shade-tolerant species *Cucumis sativus* (cucumber) and the light-loving species *Cucumis melo* (melon). Plants were acclimated to moderate (50–125 $\mu\text{mole photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) or high light (850–1000 $\mu\text{mole photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Parameters of a fast induction of chlorophyll *a* fluorescence, emitted from

photosystem 2 (PS2), were determined using a conventional OJIP test. For monitoring the turnover of photosystem 1 (PS1) reaction centers P_{700}^+ , we used electron paramagnetic resonance. The shade-tolerant (*C. sativus*) and light-loving (*C. melo*) species, acclimation to high or low light irradiation, revealed substantial difference in their response to variations of light intensity. Photosynthetic activity of shade-tolerant species *C. sativus* revealed higher sensitivity to light intensity during acclimation as compared to *C. melo*. In the course of the long-term acclimation (more than 2 months) of *C. sativum* to high light ($\geq 500 \mu\text{mole photons m}^{-2} \text{ m}^{-1}$), a photochemical activity of PS2 decreased. This was not the case, however, for leaves of *C. melo*. In *C. sativus* leaves, a decrease in photochemical activity of PS2 caused by acclimation to high light was reversible, demonstrating the recovery after the attenuation of irradiation intensity. Plants of both species acclimated to high and low light also revealed significant differences in the two-phase kinetics of P_{700}^+ redox transients. In the leaves of plants acclimated to strong light, we observed a lag-phase in the kinetics of P_{700}^+ photooxidation that could be attributed to cyclic electron transport (CET) around PS1. The ratio of the signals induced by white light and far-red light (707 nm) was higher in plants acclimated to strong light. This effect can be explained by the enhancement of CET and optimization of the energy balance at excess of light, protecting plants from oxidative stress. The data obtained are discussed in the context of the problem of photosynthesis optimization upon fluctuations of light intensity.

Keywords: cucumis plants, acclimation, chlorophyll fluorescence induction, EPR