

УДК 581.132

ДОСЛІДЖЕННЯ СВІТЛОВОЇ ФАЗИ ФОТОСИНТЕЗУ В ІНСТИТУТІ ФІЗИОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

С.М. КОЧУБЕЙ, В.В. ШЕВЧЕНКО

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: smk_off@mail.ru*

Описано історію досліджень світлової фази фотосинтезу у відділі біохімії фотосинтезу ІФРГ НАН України з моменту його створення у 1964 р. по теперішній час. Напрямок досліджень визначався рівнем розвитку світової науки. Він був оригінальним і не дублював напрями, що розроблялися в той час провідними лабораторіями СРСР. Наведено основні результати, у тому числі пріоритетні, отримані вперше у світі. До їх числа належать: виділення фрагментів хлоропластів, носіїв двох фотосистем, встановлення місць їх локалізації в мембранах хлоропластів, отримання їх детальних біохімічних і функціональних характеристик, а також спектрів низькотемпературної флуоресценції. Вперше доведено існування власної світлозбиральної антени фотосистеми I, температурну залежність флуоресценції якої виміряно аж до температури 4 К, що уможливило оцінювання швидкості захоплення енергії реакційними центрами. Вперше доведено факт асоціації фосфорильованого світлозбирального комплексу із фотосистемою I. Показано, що при цьому переноситься особливий пул зі специфічним складом ліпідів. Вперше виявлено зменшення розмірів хлоропластів за короткочасного високотемпературного прогрівання, що зумовлено реорганізацією ультраструктури, при якій утворюються грани зі збільшеним числом тилакоїдів. Установлено, що прогрівання за наявності світла супроводжується розпушуванням упакування антенного комплексу фотосистеми II, що може бути зм'якшувальним чинником. За високотемпературного прогрівання вперше виявлено ефект відновлення фотохімічної активності після початкового її зменшення в разі пролонгації прогрівання.

Ключові слова: фотосинтез, відділ біохімії фотосинтезу, історія.

Відділ біохімії фотосинтезу був заснований у 1964 р. за наказом Президії АН УРСР. Основним його завданням було вивчення принципів організації та механізмів функціонування світлової фази фотосинтезу. Слід зазначити, що в Україні такі дослідження були започатковані своєчасно і з тих пір ішли в ногу з розвитком світової науки, іноді навіть випереджували його за деякими принципово важливими результатами.

Є підстави вважати, що поштовх до ретельного вивчення світлової фази фотосинтезу був зумовлений кількома обставинами. Перш за все самим фактом встановлення існування двох фаз у фотосинтезі вищих рослин — світлової та темної, а також їхньої здатності функціонувати окремо за певних умов. Це впливало з низки важливих результатів, отриманих наприкінці 30-х й у 40—50-х роках минулого століття [18]. Бли-

скучі роботи Кальвіна та його лабораторії в основному розкрили механізм темної фази, що значною мірою спрямувало зусилля вчених на дослідження саме у цьому напрямі. Однак було також з'ясовано, що первинна трансформація енергії сонячного світла в енергію хімічних зв'язків відбувається у світлову фазу, причому з високою ефективністю. Розкриття принципу, що забезпечував це явище, було вкрай привабливим через перспективу створення штучних перетворювачів сонячної енергії з високим коефіцієнтом корисної дії. Вчені вважали, що воно зробить революцію в енергетиці на базі розробки високоефективних перетворювачів сонячної енергії на електричну. У зв'язку з цим одним із пріоритетних напрямів досліджень у 1960-ті роки було розкриття механізму первинної фотохімічної трансформації енергії в процесі фотосинтезу. До того ж істотне зростання технічних можливостей надало потужного імпульсу проведенню експериментальних досліджень. За участю відомих учених у галузі фізики твердого тіла, а також хімії та фотохімії були запропоновані різні моделі процесу: напівпровідникова з рознесенням негативних і позитивних зарядів у різні зони провідності, молекулярних екситонів, комплексів із перенесенням заряду та ін. Однак жодна з цих моделей не вирішувала проблему стабілізації стану з просторово розділеними зарядами в часі, що саме й зумовлює високий коефіцієнт корисної дії фотохімічної реакції. Позитивну роль у цих дослідженнях зіграла ідея про існування так званого електронтранспортного ланцюга (ЕТЛ) та його участь у первинній фототрансформації. Ця ідея, запропонована відомим біохіміком Арноном у 1959 р. [45], спочатку не була безпосередньо спрямована на виявлення механізму розділення та стабілізації розділених зарядів, однак згодом саме завдяки їй вдалося розробити механізм цього процесу як поступову витрату малих порцій енергії квантів світла у разі швидкого перенесення електронів переносниками заряду в ЕТЛ із поступовим подовженням часу існування відновленого стану цих переносників.

Доволі абстрактна ідея щодо існування ЕТЛ була підтримана експериментальними відкриттями кінця 1950-х років. На основі даних про те, що хлоропласти за наявності світла здатні відновлювати піридиннуклеотид (НАДФ), а також розщеплювати молекули води з наступним виділенням кисню, була запропонована реальніша схема ЕТЛ. Ця гіпотеза надала потужного поштовху дослідженням її організації: пошуку біохімічних сполук, що можуть входити до ЕТЛ, послідовності їх розміщення, їхніх редокс-потенціалів та інших властивостей. Особливо загадковою була та обставина, що в рамках ЕТЛ функціонують системи, здатні продукувати сильний окисник, який окиснює молекулу води, разом із сильним відновником, що відновлює НАДФ. Часткову відповідь на це питання дала гіпотеза про існування двох взаємозв'язаних фотореакцій, що функціонують у світловій фазі фотосинтезу, яку висунули Хілл і Бендал у 1960 р. Згідно з нею, в одній фотореакції розщеплюється вода, в іншій — відновлюється НАДФ. Однак при цьому постало принципове питання щодо реалізації просторового розділення окисника й відновника, необхідне для запобігання швидкій рекомбінації цих продуктів.

У цей самий час було сформоване уявлення про так звану фотосинтетичну одиницю. Згідно з ним, існує сукупність молекул хлорофілу, яка поглинає світло і переносить енергію квантів до специфічних молекул хлорофілу, які і здійснюють фотохімічну трансформацію. Останні згодом були названі реакційними центрами. Перевірка цієї гіпотези по-

требувала розробки механізмів перенесення енергії між молекулами пігменту, а також її захоплення реакційними центрами.

Отже, на початку 1960-х років було сформульовано кілька загальних гіпотез стосовно організації та функціонування світлової фази фотосинтезу, які потребували детальної розробки. У цих умовах потрібно було визначити напрям досліджень щойно організованого відділу біохімії фотосинтезу. В Радянському Союзі на той час проводились дослідження за цією темою в кількох лабораторіях: фотохімічні реакції хлорофілу та інших порфіринів у лабораторіях Красновського (Інститут біохімії ім. О.М. Баха АН СРСР, Москва), Євстигнєєва (Інститут фотосинтезу АН СРСР, Пушино), фотоніка молекул хлорофілу в лабораторії академіка Тереніна (Державний оптичний інститут ім. С.І. Вавилова, Ленінград), спектроскопію молекул хлорофілу та інших порфіринів вивчали Севченко, Гурінович, Соловійов (Інститут фізики АН БРСР, Мінськ), біосинтез молекул хлорофілу лабораторія Шлика (Інститут фотобіології АН БРСР, Мінськ).

Професор Островська, яка очолила відділ біохімії фотосинтезу, запропонувала оригінальний напрям досліджень, що не повторював жодного з розроблюваних в інших лабораторіях колишнього Радянського Союзу. Він належав до числа найновітніших, що розроблялися у світі. Кілька дослідників вели пошук матеріальних структур, які можна було б вважати носіями й виконавцями двох теоретично передбачених фотореакцій. Основним шляхом була фрагментація хлоропластів. Про перший успіх було повідомлено в Доповідях НАН США у 1966 р. [47]. Отримані субхлоропластні фрагменти істотно відрізнялись за спектрами низькотемпературної флуоресценції. У 1969 р. було опубліковано нашу працю [33], де поряд зі спектрами флуоресценції субхлоропластних фрагментів наводились дані, які вказували на такі відміни характеру фотохімічних реакцій, що уможливлювали ототожнення цих часточок із матеріальними носіями двох фотосистем. Отже, є підстави вважати, що в Україні вперше у світі були отримані докази існування двох фотосистем, здатних функціонувати окремо, у хлоропластах вищих рослин.

Оскільки колектив відділу складався зі спеціалістів різного профілю, вдалося організувати багатопланові дослідження, що сприяло швидкому й успішному отриманню новітніх експериментальних результатів, розвитку знань про організацію та функціонування світлової фази фотосинтезу. Слід зазначити, що ці результати не копіювали отриманих в інших відомих лабораторіях світу. Вони завжди були оригінальними, інколи — випереджали світові.

Виділення фрагментів хлоропластів, що виконували дві первинні фотореакції, в доволі короткі терміни дало інформацію про їх біохімічний склад, зокрема вміст хлорофілів *a* і *b*, різних каротиноїдів, ліпідів, пігмент-білкових комплексів [4, 28, 38]. Участь певних ліпідних і білкових компонентів в організації пігмент-білкових комплексів фотосистем I, II вивчали за допомогою обробки різними ліпазами та протеїназами з наступним тестуванням зміни спектральних і фотохімічних властивостей [31, 32, 34, 58]. Було сформульовано і згодом підтверджено гіпотезу про існування двох типів фотосистеми I, що містяться в різних просторово розділених сайтах і беруть участь у двох гілках транспорту електронів: нециклічному або циклічному [3, 4, 27, 29, 59]. Вперше отримано докази існування власного світлозбирального пулу пігментів у фотосистемі I [12]. До наших досліджень вважалося, що такого не існує.

Вперше продемонстровано здатність фрагментів міжгранальних тилакоїдів, що містять фотосистему I, здійснювати реакцію циклічного фотофосфорилювання [39]. У подальших дослідженнях вдалось досягнути детальнішого розділення хлоропластів на функціонально визначені часточки. Так, отримано фракцію надважких фрагментів, що були майже цілісними гранами [8], фрагменти крайових ділянок тилакоїдів гран, які містили фотосистему I, що відрізнялась від розміщеної у міжгранальних тилакоїдах і центральній частині грани [8, 12, 13, 23, 25]. Так було підтверджено висунуту нами раніше гіпотезу про існування в хлоропластах двох типів фотосистеми I. У результаті детального вивчення властивостей однієї з фракцій субхлоропластних фрагментів сформульовано гіпотезу про існування в грані так званих нетипових тилакоїдів, що були продовженням у грану міжгранальних тилакоїдів [22].

Отримано електронно-мікроскопічні зображення структур, що відповідали локалізації двох фотосистем, у тім числі гран, в яких міститься фотосистема II, а також фрагментів міжгранальних тилакоїдів, які містять фотосистему I [40, 43]. Слід зазначити, що тільки у нашому відділі отримано зображення цілісних міжгранальних тилакоїдів [42]. Запропоновано оригінальну гіпотезу щодо формування гран у процесі біосинтезу хлоропластів із певних внутрішніх структур оболонки хлоропласта [43].

Розвиток методів низькотемпературної флуориметрії забезпечив, з одного боку, надійне тестування належності субхлоропластних фрагментів до певної фотосистеми, з іншого — дослідження механізмів перенесення енергії в пігментних комплексах мембран хлоропластів. Зокрема, вперше отримано температурні залежності виходів флуоресценції хлоропластів і субхлоропластних фрагментів, що належали до фотосистем I, II [12, 16, 46, 56, 57], що дало змогу розрахувати константи швидкості перенесення енергії та її захоплення реакційними центрами [12, 17]. За цю роботу працівники відділу були нагороджені премією НАН України ім. М.Г. Холодного. Слід зазначити, що низькотемпературні спектрофлуориметричні дослідження на теренах колишнього СРСР проводились тільки в Україні, у нашому відділі, й систематично проводяться досі. За кордоном такі дослідження почали систематично виконуватись у лабораторії професора Гронделла в Інституті фізики та астрономії (Амстердам, Нідерланди) з 1980-х років. Доречі, ці експерименти ґрунтуються на досвіді використання оптичної техніки для низькотемпературних вимірювань, розробленої в м. Лейден, де вперше у світі було скраплено газу повітря.

Подальші дослідження у відділі біохімії фотосинтезу розвивались у напрямі вивчення динамічних характеристик фотосинтетичного апарату, зокрема розроблялись уявлення про зміни організації мембранних пігмент-білкових комплексів під час фосфорилювання білків хлоропластів, а також про зміни фотохімічної активності. Вперше отримано докази латерального переміщення фосфорилюваного світлозбирального комплексу від фотосистеми II до фотосистеми I та асоціювання з нею [9, 14, 15, 29, 60, 61, 63—65]. Показано, що переміщується тільки частина пулу світлозбирального комплексу, до складу якого входять специфічні ліпіди. За цикл робіт із фрагментації хлоропластів, вивчення їхніх властивостей та ефектів фосфорилювання групу співробітників відділу було нагороджено Державною премією України в галузі науки і техніки.

Отримано дані про зміни фотосинтетичного апарату під дією мікрогравітації [10, 55]. Досліджували рослини, вирощені на борту

космічного корабля «Columbia», при реалізації українсько-американського космічного проекту (Collaborative Ukrainian Experiment, CUE, Space Shuttle Mission STS-87), участь у якому взяли співробітники відділу.

Виявлено специфічні зміни фотосинтетичного апарату рослин томатів, що були ядерно-хлоропластними цибридами [6, 51]. Так, було встановлено ядерно-хлоропластну взаємодію, що підтвердило уявлення про подвійне кодування білків хлоропластів ядерним і хлоропластним геномами. Доведено також, що рослини кукурудзи регенеруються тільки з клітин калюсної тканини із повністю сформованим фотосинтетичним апаратом [19].

Подальші етапи дослідження учених відділу були пов'язані з розробкою уявлень про початкові зміни структури і функцій фотосинтетичного апарату, спричинені дією підвищеної температури, освітлення або сумісним впливом обох чинників. Основний застосований підхід — короткочасний вплив діючого чинника підвищеної напруженості з метою відстеження переважного функціонування фізико-хімічних механізмів. Було відкрито нові явища, зокрема зменшення розмірів хлоропластів, що могло бути оборотним або, навпаки, необоротним залежно від рівня напруженості чинника [1, 2, 20]. Як показали електронно-мікроскопічні дослідження, цей феномен зумовлений специфічними перебудовами ультраструктури хлоропластів. Так, прогрівання хлоропластів у темряві спричинювало просторове зміщення гран, а за вищих температур — утворення значної кількості гран зі збільшеним числом тилакоїдів у грані. Прогрівання за наявності світла призводило до аналогічних змін, але пакування тилакоїдів у модифікованих гранах дещо відрізнялось [2]. Ці дані підтверджені результатами вивчення фрагментації хлоропластів після прогрівання. Вихід фракції гран підвищувався приблизно на 25 % через наявність модифікованих гран зі збільшеним числом тилакоїдів. Також зростав вихід фрагментів, що були крайовими ділянками гранальних тилакоїдів, унаслідок зменшення площі стикованої частини сусідніх тилакоїдів у грані. Останнє явище підтверджується також електронно-мікроскопічними зображеннями [2].

Спектри циркулярного дихроїзму виявляють порушення в упорядкованій структурі мембранних макромолекул світлозбирального комплексу, причому вони менші в разі прогрівання за наявності світла.

За спектрами низькотемпературної флуоресценції можна встановити зміни в обміні енергією у пігмент-білкових комплексах мембран [26, 52]. У разі високотемпературного прогрівання за наявності світла перенесення енергії з мінорної світлозбиральної антени на реакційні центри фотосистеми II зменшується [52], унаслідок чого ушкоджувальний вплив високотемпературного стресу ослаблюється. Такий захисний вплив світла описали автори праць [48—50], а також він виявлений нами [41]. У фотосистемі I, навпаки, високотемпературне прогрівання призводить до посилення перенесення енергії з мінорної антени на реакційні центри [26], унаслідок чого зростає швидкість фотохімічної реакції, що було встановлено нами за змінами кінетики окиснення реакційних центрів фотосистеми I — пігменту P700 [21].

Ці дослідження, виконані на хлоропластах і листках, відокремлених від рослини, продовжуються з цілими рослинами. У дорослих рослин, які прогривають у ґрунті, в перші хвилини настають зміни, аналогічні спостережуваним при прогриванні хлоропластів і листків. Однак у разі продовження прогривання виникають явища, пов'язані з реакцією

всього рослинного організму. Так, після 5-хвилинної експозиції за температури 45 °С за наявності світла фотохімічна активність знижується на 60–80 %. При подовженні прогрівання вона починає відновлюватись і через 20 хв досягає майже контрольного рівня [24], причому первинне зниження активності супроводжується явищами, аналогічними спостережуваним при прогріванні хлоропластів: втрата енергії збудження у світлозбиральній антені, зменшення швидкості перенесення енергії на реакційні центри фотосистеми II, ускладнення виходу електронів з найближчого локусу реакційних центрів фотосистеми II. У разі продовження прогріву спостерігається релаксація цих явищ. Логічно припустити, що однією з причин такої динаміки є раптова втрата вологи листками і наступна її компенсація внаслідок інтенсифікації роботи кореня і транспортної системи. Можлива також участь інших механізмів, наприклад зміна стану пігментної системи. Ми отримали попередні дані про динаміку співвідношення хлорофілів *a* і *b*. Подальші дослідження будуть спрямовані на з'ясування всього спектра механізмів, що беруть участь у перебудові фотосинтетичного апарату рослин на шляху адаптації до високотемпературного стресу й посухи. Порівняння реакції рослинного організму у відповідь на стрес уможливить добір стійких генотипів господарсько-корисних рослин, наприклад таких, як пшениця. Розробка швидких тестів для скринінгу селекційного матеріалу, а також прийомів підвищення стійкості рослин зумовлюватимуть практичну цінність таких розробок разом з отриманням принципово нових фундаментальних результатів у галузі фізіології рослин.

У відділі проводились також дослідження прикладного характеру. Це перш за все розробка методів боротьби з карбонатним хлорозом рослин винограду і плодових дерев, що ростуть на ґрунтах із недостатнім вмістом доступного для рослин заліза. Ця хвороба уражує фотосинтетичний апарат і залежно від ступеня тяжкості може призвести до загибелі рослин. Результати теоретичних досліджень з цієї проблеми викладено в кількох монографіях та оглядових статтях [30, 35–37]. Спільно із співробітниками Інституту загальної та неорганічної хімії НАН України розроблено спеціальні добрива, промислове виробництво яких налагоджено на Шосткінському хімкомбінаті, що забезпечило їх широкомасштабне впровадження. За цю розробку завідувачка відділу професор Островська була удостоєна Державної премії Радянського Союзу.

Друга робота прикладного характеру — розробка методів дистанційної діагностики стану рослин у посівах на основі вимірювань їх спектральних характеристик [7]. Запропонований метод, що ґрунтується на розробленому нами оригінальному алгоритмі обробки спектра відбиття рослинності, дає змогу визначати вміст хлорофілу [53, 62]. У свою чергу, це уможливило оцінювання низки важливих показників, таких як прогноз урожаю, ступінь зрілості, ранні ознаки хвороби рослин. За грантом Українського науково-технічного центру у співпраці із заводом «Арсенал» було сконструйовано прилад для реалізації розробленого алгоритму польових вимірювань. На нього отримано патент України [44]. Широкомасштабні випробування приладу в польових умовах дали змогу уточнити інформацію, яку можна отримати при таких вимірюваннях, а також створити основи методології його застосування [5]. Запропонований нами алгоритм можна успішно застосовувати для обчислення вмісту хлорофілу за спектрами відбиття рослинності, що вимірюються гіперспектральною технікою з борту космічного корабля [11, 54]. Отже, розроб-

лена нами апаратура, аналога якій поки що немає в світі, придатна для успішного використання у багатьох сферах. Масове промислове виробництво такої апаратури може розпочатися в Україні, якщо будуть знайдені джерела фінансування.

За роки існування у відділі підготовлено 4 доктори і 20 кандидатів наук. Опубліковано 12 монографій, більш як 400 статей у фахових журналах, у тім числі 100 у таких престижних англомовних, як *FEBS Letters*, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *Photosynthesis Research*, *Photosynthetica*, *Plant Science Letters*, *Journal of Plant Physiology*.

1. *Бондаренко О.Ю.* Изменение размеров хлоропластов листьев гороха, индуцированное кратковременным прогревом // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — **42**, № 1. — С. 79—83.
2. *Бондаренко О.Ю., Шевченко В.В.* Изменения структуры хлоропластов листьев гороха, индуцированные кратковременным прогревом // Там же. — 2012. — **44**, № 3. — С. 265—269.
3. *Гамаюнова М.С., Григора М.Ю., Островская Л.К.* Выделение и характеристика содержащих фотосистему I фрагментов из тилакоидов стромы и гран хлоропластов гороха // Там же. — 1973. — **5**, № 5. — С. 456—460.
4. *Гамаюнова М.С., Кочубей С.М., Островская Л.К. и др.* Фотохимические системы хлоропластов. — Киев: Наук. думка, 1975. — 206 с.
5. *Казанцев Т.А., Туменок Л.В., Кочубей С.М.* Дистанционные измерения динамики содержания хлорофилла в посевах озимой пшеницы // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — **42**, № 6. — С. 544—549.
6. *Кочевенко А.С., Ратушняк А.И., Корнеев Д.Ю. и др.* Состояние фотосинтетического аппарата у цитоплазматического гибрида культурного томата, обладающего признаками ядерно-цитоплазматической несовместимости // Физиология растений. — 1999. — **46**, № 4. — С. 550—558.
7. *Кочубей С.М.* Аппаратура и методы дистанционного зондирования растительности в оптическом диапазоне // Космічна наука і технологія. — 2002. — **8**, № 2/3. — С. 271—275.
8. *Кочубей С.М., Бондаренко О.Ю., Шевченко В.В.* Новый тип субхлоропластных фрагментов, выделенных из хлоропластов гороха с помощью дигитонина // Биохимия. — 2007. — **72**, № 9. — С. 1255—1261.
9. *Кочубей С.М., Воловик О.И., Рубан А.В.* Перенос комплексов фотосистемы II в межграницы тилакоидов при фосфорилировании мембранных белков хлоропластов // Докл. АН СССР. — 1991. — **319**, № 3. — С. 763—767.
10. *Кочубей С.М.* Исследования фотосинтетического аппарата растений по программе совместного украинско-американского эксперимента «Шатл-97» // Физиология и биохимия культ. растений. — 1998. — **30**, № 3. — С. 235—238.
11. *Кочубей С.М., Казанцев Т.А.* Использование деривативных вегетационных индексов для оценки содержания хлорофилла в растительности по данным измерения из космоса // Космічна наука і технологія. — 2011. — **17**, № 3. — С. 54—59.
12. *Кочубей С.М.* Организация пигментов фотосинтетических мембран как основа энергообеспечения фотосинтеза. — Киев: Наук. думка, 1986. — 190 с.
13. *Кочубей С.М.* Особенности организации краевых участков гранальных тилакоидов гороха // Физиология растений. — 2001. — **48**, № 3. — С. 392—399.
14. *Кочубей С.М., Рубан А.В.* Взаимодействие фосфорилированного светособирающего комплекса фотосистемы 2 с фотосистемой 1 // Докл. АН СССР. — 1989. — **304**, № 5. — С. 1249—1252.
15. *Кочубей С.М., Рубан А.В., Воловик О.И., Мануильская С.В.* Фосфорилирование белков светособирающего комплекса и электронный транспорт в фотосистемах 1 и 2 // Там же. — 1988. — **302**, № 4. — С. 1020—1024.
16. *Кочубей С.М., Самохвал Е.Г., Мюллер И.* Температурные зависимости спектров флуоресценции хлоропластов и легких фрагментов // Stud. biophys. — 1976. — **54**, № 3. — Р. 217—224.
17. *Кочубей С.М., Самохвал Е.Г., Сериков А.А., Хоменко Ю.М.* Модель донор-акцепторного энергопереноса в фотосистеме 1 // Докл. АН УССР, серия «А». — 1977. — № 4. — С. 363—366.
18. *Кочубей С.М.* Физико-химические процессы фотосинтеза: история исследований и современное состояние // Физиология и биохимия культ. растений. — 1996. — **28**, № 1—2. — С. 73—87.
19. *Кочубей С.М., Чеченева Т.Н., Шевченко В.В.* Исследование состояния фотосинтетического аппарата в каллусных тканях кукурузы // Физиология растений. — 1994. — **41**, № 1. — С. 17—20.

20. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю.* Влияние кратковременного прогрева на изменения размеров хлоропластов // Там же. — 2008. — **40**, № 2. — С. 426—434.
21. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю.* Динамические свойства структурных единиц хлоропластов. — Киев: Логос, 2010. — 176 с.
22. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю.* Особенности организации гран хлоропластов гороха // Физиология растений. — 2005. — **52**, № 4. — С. 499—506.
23. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю.* Особенности состояния комплексов фотосистемы I в центральной области гранальных тилакоидов гороха // Там же. — 2003. — **50**, № 3. — С. 325—331.
24. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю., Панас И.Д.* Динамика изменений функциональной активности фотосинтетического аппарата растений гороха, вызываемых высокотемпературным стрессом // Доп. НАН України. — 2013. — № 6. — С. 152—156.
25. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Бондаренко О.Ю.* Характеристики комплексов фотосистемы I в концевых мембранах гранальных тилакоидов гороха // Физиология растений. — 2004. — **51**, № 2. — С. 165—169.
26. *Кочубей С.М., Шевченко В.В., Казанцев Т.А.* Изменения антенны фотосистемы I, индуцируемые кратковременным прогревом // Биологические мембраны. — 2013. — **30**, № 1. — С. 69—80.
27. *Мануильская С.В., Гамаюнова М.С., Яковенко Г.М. и др.* Липидный состав препаратов комплексов реакционных центров фотосистемы I из гран и межгранных тилакоидов хлоропластов гороха // Физиология и биохимия культ. растений. — 1981. — **13**, № 1. — С. 53—58.
28. *Островская Л.К., Гамаюнова М.С.* Хлорофилл-белковые комплексы фотосистемы I из тилакоидов и гран хлоропластов // Хлорофилл. — Минск, 1974. — С. 249—255.
29. *Островская Л.К., Гамаюнова М.С., Кочубей С.М. и др.* Некоторые сравнительные характеристики фрагментов, содержащих фотосистему I, из ламелл стромы и ламелл гран хлоропластов // Докл. АН СССР. — 1973. — **209**, № 6. — С. 1457—1460.
30. *Островская Л.К.* Железо в растительном мире и карбонатный хлороз. — Киев: Наук. думка, 1993. — 148 с.
31. *Островская Л.К., Кочубей С.М., Мануильская С.В.* Изучение воздействия гидролитических ферментов на фотосинтетический аппарат высших растений // Физиология и биохимия культ. растений. — 1969. — **1**, № 1. — С. 27—32.
32. *Островская Л.К., Кочубей С.М., Мануильская С.В.* Спектральные проявления воздействия галактолипазы на нативные формы хлорофилла *a* // Докл. АН СССР. — 1969. — **186**, № 4. — С. 961—963.
33. *Островская Л.К., Кочубей С.М., Рейнгард Т.А.* Спектральные свойства и фотохимическая активность фрагментов хлоропластов, полученных с помощью дигитонина и Тритона X-100 // Биофизика. — 1969. — **14**, № 2. — С. 265—275.
34. *Островская Л.К., Кочубей С.М., Шадчина Т.М.* Действие фосфолипазы на спектральные и фотохимические свойства хлоропластов и их фрагментов // Биохимия. — 1975. — **40**, № 1. — С. 169—174.
35. *Островская Л.К., Макарова Г.М., Яковенко Г.М.* Карбонатный хлороз и хелатные удобрения. — Киев: Урожай, 1973. — 103 с.
36. *Островская Л.К.* Металлорганические комплексы и фотосинтез // Физиологическая роль и практическое применение микроэлементов. — Рига, 1976. — С. 39—53.
37. *Островская Л.К.* Роль железа в растениях, нарушения его метаболизма и применение хелатных соединений в качестве железных удобрений // Биологическая роль микроэлементов и их применение в сельском хозяйстве и медицине. — М., 1974. — С. 95—110.
38. *Островская Л.К., Яковенко Г.М., Гамаюнова М.С. и др.* Липидный состав содержащих фотосистему I фрагментов межгранных тилакоидов и тилакоидов гран хлоропластов гороха // Физиология и биохимия культ. растений. — 1975. — **7**, № 5. — С. 451—455.
39. *Рейнгард Т.А., Воловик О.И., Зайцева Н.А. и др.* Влияние пируваткиназы и фосфоенолпирувата на скорость фотофосфорилирования дигитониновых фрагментов хлоропластов // Физиология и биохимия культ. растений. — 1972. — **4**, № 4. — С. 345—349.
40. *Силаева А.М., Мошков Д.А., Гамаюнова М.С., Островская Л.К.* Структура гранных и межгранных тилакоидов хлоропластов кукурузы по данным метода криоскальвания // Докл. АН СССР. — 1976. — **226**, № 5. — С. 1192—1195.
41. *Шевченко В.В.* Свет низкой интенсивности защищает фотосистему 2 от ингибирования при кратковременном прогреве // Физиология и биохимия культ. растений. — 2011. — **43**, № 6. — С. 527—532.
42. *Ширяев А.И., Рейнгард Т.А., Полищук А.И., Островская Л.К.* Субмикроскопическая организация тилакоидов стромы хлоропластов гороха // Докл. АН СССР. — 1972. — **204**, № 5. — С. 1237—1240.

43. Ширяев А.И. Субмикроскопическая и макромолекулярная организация хлоропластов. — Киев: Наук. думка, 1977. — 160 с.
44. UA 70505 U, G01T 7/00. Польовий спектрометр для тестування стану рослинності / С.М. Кочубей, В.В. Донець, Т.А. Казанцев. — Оpubл. 11.06.2012, Бюл. № 11.
45. Arnon D.I. Conversion of light into chemical energy in photosynthesis // Nature. — 1959. — **184**, N 1. — P. 10—21.
46. Avarmaa R.A., Kochubey S.M., Tamkivi R.P. Low-temperature fluorescence decay and energy transfer in photosynthetic units // FEBS Lett. — 1979. — **102**, N 12. — P. 139—142.
47. Boardman N.K., Thorn S.W., Anderson J.M. Fluorescence properties of particles obtained by digitonin fragmentation of spinach chloroplasts // Proc. Nat. Acad. Sci. — 1966. — **21**, N 1. — P. 115—140.
48. Havaux M., Greppin H., Strasser R. Functioning of photosystems I and II in pea leaves exposed to heat stress // Planta. — 1991. — **186**, N 1. — P. 1—15.
49. Havaux M. Short-term responses of Photosystem I to heat stress. Induction of PSII-independent electron transport through PSI fed by stromal components // Photosynth. Res. — 1996. — **47**, N 1. — P. 85—97.
50. Kalituhо L.N., Pshybytko N.L., Kabashnikova L.F., Jahns P.P. Photosynthetic apparatus and high temperature: role of light // Bulg. J. Plant Physiol. — 2003. — Special iss. — P. 281—289.
51. Kochevenko A.S., Ratushnyak A.Y., Kornyejev D.Y. et al. Functional cybrid plants of *Lycopersicon peruvianum* var. *dentatum* with chloroplasts of *Lycopersicon esculentum* // Plant Cell Rep. — 2000. — **19**, N 6. — P. 588—597.
52. Kochubey S.M. Changes in antenna of photosystem II induced by short-term heating // Photosynth. Res. — 2010. — **106**, N 3. — P. 239—246.
53. Kochubey S.M., Kazantsev T.A. Changes in the 1-st derivatives of leaf reflectance spectra of various plants induced by variations of chlorophyll content // J. Plant Physiol. — 2007. — **164**, N 12. — P. 1648—1655.
54. Kochubey S.M., Kazantsev T.A. Derivative vegetation indices as a new approach in remote sensing of vegetation // Frontiers Earth Sci. — 2012. — **6**, N 21. — P. 188—195.
55. Kochubey S.M., Kordyum E.L., Adamchuk N.I., Gaikema J. Microgravity affects the photosynthetic apparatus of *Brassica rapa* L. // Plant Biosystems. — 2004. — **138**, N 1. — P. 1—9.
56. Kochubey S.M., Samokhval E.G., Klimusheva G.V., Dellukov A.A. Temperature dependence of absolute fluorescence yields of chloroplast fragments // Arch. Biochem. Biophys. — 1980. — **200**, N 1. — P. 65—71.
57. Kochubey S.M., Samokhval E.G. Long-wavelength chlorophyll forms in Photosystem I from pea thylakoids // Photosynth. Res. — 2000. — **62**, N 3. — P. 281—290.
58. Kochubey S.M., Shadchina T.M., Ostrovskaya L.K. Action of hydrolytic enzymes on the fluorescence spectra of pigment-lipoprotein complexes of photosystem I // Photosynthetica. — 1975. — **9**, N 4. — P. 391—394.
59. Kochubey S.M., Shadchina T.M., Ruban A.V. Organization of pigment system of PS1 particles from grana thylakoids // Ibid. — 1983. — **17**, N 2. — P. 251—255.
60. Kochubey S.M., Shevchenko V.V., Volovik O.I. Fluorescence studies on interaction between phospho-LHCII and subchloroplast photosystem 1 preparations // Photosynth. Res. — 1993. — **38**, N 1. — P. 153—157.
61. Kochubey S.M., Volovik O.I., Sytnik S.K. Phosphorylation of photosystem 2 proteins and migration into intergrana thylakoids // Photosynthetica. — 1993. — **29**, N 2. — P. 219—225.
62. Kochubey S.M., Yatsenko V.A. Monitoring system for agricultural crops on chlorophyll basis // Proc. SPIE 10th International Symposium Remote Sensing. — 2003. — **5232**, N 1. — P. 92—99.
63. Manuilskaya S.V., Volovik O.I., Kochubey S.M. Changes in lipid composition of photosystem 1 particles from chloroplasts phosphorylated under reductive or anaerobic conditions // Photosynth. Res. — 1995. — **43**, N 2. — P. 225—230.
64. Ruban A.V., Kochubey S.M. Changes in photosystem 1 characteristics induced by phosphorylation of chloroplast proteins of plants grown with various environment. 2. Emission and excitation spectra // Photosynthetica. — 1989. — **23**, N 2. — P. 173—180.
65. Volovik O.I., Kochubey S.M. Changes in photosystem 1 characteristics induced by photophosphorylation of chloroplast proteins of plants grown with various environment. 1. Migration and incorporation of light-harvesting chlorophyll *a/b* protein // Ibid. — N 1. — P. 36—42.

Отримано 25.09.2013

ИССЛЕДОВАНИЯ СВЕТОВОЙ ФАЗЫ ФОТОСИНТЕЗА В ИНСТИТУТЕ
ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ГЕНЕТИКИ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
УКРАИНЫ

С.М. Кочубей, В.В. Шевченко

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Описана история исследований световой фазы фотосинтеза в отделе биохимии фотосинтеза ИФРГ НАН Украины с момента его создания в 1964 г. по настоящее время. Направление исследований определялось уровнем развития мировой науки. Оно было оригинальным и не дублировало направления, разрабатываемые в то время ведущими лабораториями СССР. Приведены основные результаты, в том числе приоритетные, полученные впервые в мире. К их числу относятся: выделение фрагментов хлоропластов, носителей двух фотосистем, установление мест их локализации в мембранах хлоропластов, получение их подробных биохимических и функциональных характеристик, а также спектров низкотемпературной флуоресценции. Впервые доказано существование собственной светособирающей антенны фотосистемы I, температурная зависимость флуоресценции которой измерена вплоть до температуры 4 К, что дало возможность оценить скорость захвата энергии реакционными центрами. Впервые доказан факт ассоциации фосфорилированного светособирающего комплекса с фотосистемой I. Показано, что при этом переносится особый пул со специфическим составом липидов. Впервые обнаружено уменьшение размеров хлоропластов при кратковременном высокотемпературном прогреве, что обусловлено реорганизацией ультраструктуры, при которой образуются граны с увеличенным количеством тилакоидов. Установлено, что прогрев при наличии света сопровождается разрыхлением упаковки антенного комплекса фотосистемы II, что может быть смягчающим фактором. При высокотемпературном прогреве впервые обнаружен эффект восстановления фотохимической активности после начального ее уменьшения при пролонгации прогрева.

RESEARCHES OF THE LIGHT PHASE OF PHOTOSYNTHESIS AT INSTITUTE OF
PLANT PHYSIOLOGY AND GENETICS OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF
UKRAINE

S.M. Kochubey, V.V. Shevchenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The history of researches of the light phase of photosynthesis in department of biochemistry of photosynthesis in IPPG NASU, from the time of its organization in 1964 year till present time is shown. A direction of researches was selected in line with a level of development of the world science. This direction was original and did not duplicate directions that were developed, at that time, by leading laboratories in the USSR. The basic results are considered, including the priority ones that were obtained for the first time in the world. Some of them are the following: isolation of subchloroplast fragments realizing functions of Photosystems I and II, the finding of sites of their localization in chloroplast membranes, studies of their detailed biochemical and functional characteristics and also their low temperature fluorescence spectra. For the first time existence of own light-harvesting antenna in photosystem I is proved and temperature dependence of its fluorescence is measured up to temperature 4 K, that has given the possibility to estimate the rate of capture of energy by reaction centers. For the first time association of phosphorylated light-harvesting complex with photosystem I was proved. It is shown, that the special pool containing the specific lipids is transferred. For the first time reduction of the sizes of chloroplasts is revealed at short-term high temperature heating. That is caused by reorganisation of ultrastructure in such way at which grana with the increased number of thylakoids form. It is found out that heating in the presence of light causes the loosening in packing of antenna complex in photosystem II that could be a softening factor. For the first time it is found out that after initial falling of photochemical activity at high temperature heating of plants the activity is able to be restored almost to the control level, at prolongation of the heating.

Key words: photosynthesis, department of biochemistry of photosynthesis, history.