

Ф. Ф. ЛИТВИН, Б. А. ГУЛЯЕВ, В. А. СИНЕЦЕВ

**СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ОТНОСИТЕЛЬНАЯ
КОНЦЕНТРАЦИЯ И КОЭФФИЦИЕНТЫ МИГРАЦИИ
ЭНЕРГИИ 10 НАТИВНЫХ ФОРМ ХЛОРОФИЛЛА А**

(Представлено академиком А. И. Опариным 19 X 1970)

Ранее красная полоса поглощения хлорофилла а *in vivo* была разложена на совокупность узких полос гауссовского типа (^{1, 2}). В настоящей работе осуществлены совместные исследования второй производной спектров поглощения, люминесценции и ее возбуждения у ряда высших растений и водорослей.

Электронно-колебательные полосы поглощения и люминесценции индивидуальных форм хлорофилла а описаны в табл. 1. При -196° большинство параметров абсорбционных полос получены непосредственно из кривых второй производной (см. рис. 1); при $+20^{\circ}$ полуширины определены после разложения спектра, которое использовано и для уточнения параметров при низкой температуре. Сужение полос при -196° не сопровождается их заметным сдвигом или изменением интенсивности. Эффект увеличения поглощения, отмеченный Батлером при 710 мμ (³), обусловлен возрастанием светорассеяния при охлаждении толстых объектов; эффект отсутствует при измерении тонких слоев плотно упакованных клеток или хлоропластов. Существенно, что для ряда разрешенных полос поглощения удалось подтвердить их гауссовскую форму.

По величине «красного смещения», достигающего 0,2 эв, можно судить о возрастающей энергии взаимодействия между хромофорами в ряду форм; о различии природы последних свидетельствует и увеличение стоксовского сдвига (^{4, 5}). При сопоставлении производных спектров поглощения, возбуждения и люминесценции (измерены совместно с И. Н. Стадничуком и В. В. Шубиным, см. рис. 2) получены подтверждения ранее высказанного мнения о том, что каждой полосе поглощения можно поставить в соответствие максимум («плечо») в спектре люминесценции.

Оценка относительного содержания и доли поглощения форм у разных видов. Как показали количественный ана-

Таблица 1

Спектральные характеристики индивидуальных нативных форм хлорофилла а в красной области

Форма	Максимум поглощения, см ⁻¹ ·10 ⁴	Максимум люминесценции, см ⁻¹ ·10 ⁴	Полуширина полос поглощения, мμ		Стоксовский сдвиг, см ⁻¹	Красное смещение полосы поглощения, см ⁻¹
			293° К	77° К		
Хл b ₆₄₈ ⁶⁵⁶	1,543	1,524	17	13	190	—
Хл а ₆₆₂ ⁶⁷⁰	1,510	1,492	16	12	180	0
Хл а ₆₇₀ ⁶⁷⁸	1,492	1,475	16	8,5	180	180
Хл а ₆₇₆ ⁶⁸⁷	1,480	1,456	16	9	240	310
Хл а ₆₈₃ ⁶⁹⁷	1,464	1,440	12	8	240	465
Хл а ₆₈₆ ⁷⁰³	1,458	1,421	12	7,5	350	530
Хл а ₆₉₃ ⁷¹³	1,445	1,402	14	11	430	650
Хл а ₇₀₂ ⁷²²	1,425	1,385	16	13	400	900
Хл а ₇₁₂ ⁷³⁰	1,405	1,370	16	15	350	1050
Хл а ₇₂₀ ⁷³⁸	1,390	1,350	—	—	350	1200

лиз спектров хлореллы и фасоли⁽²⁾ и качественное сопоставление второй производной спектров других (около 30) видов, набор и спектральные свойства форм хлорофилла универсальны для основных групп (высшие растения, зеленые, сине-зеленые, бурые, красные водоросли). Исходя из этого, по результатам разложения спектра фасоли и хлореллы с использованием ЭВМ возможно было рассчитать обратную матрицу, позволяющую непосредственно по спектру поглощения найти собственную оптическую плотность (в максимуме) для каждой формы хлорофилла (D_{ϕ}), а также ее величину относительно преобладающей формы ($D_{\phi \text{ отн}}$). Если предположить, что сила осциллятора не существенно изменяется от формы к форме, то отношение $D_{\text{нф}} / \sum D_{\text{нф}} \cdot \Delta\lambda_{\text{н}}$ (где

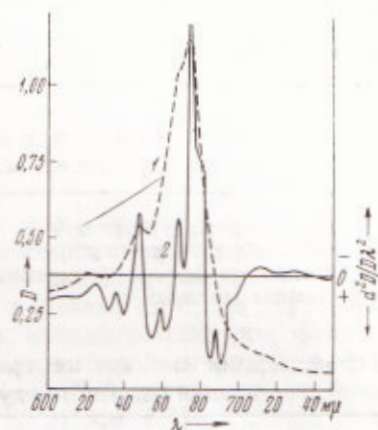


Рис. 1. Спектр поглощения (1) и его вторая производная (2) для гомогената листа фасоли при 77° К

$\Delta\lambda_{\text{н}}$ — полуширина полосы) должно отражать относительное содержание пигмента, находящегося в клетке в виде данной формы ($C_{\phi \text{ отн}}$), а при малой оптической плотности объекта — долю собственного поглощения света данной формой ($I - T$) $_{\phi \text{ отн}}$.

Рассматривая табл. 2, можно отметить явные различия этих показателей для разных видов растений; существенные изменения происходят в процессе накопления пигмента в листьях. При увеличении оптической плотности доля поглощения света для малопоглощающих (длинноволновых) форм возрастает до 3—4 раз, что может иметь функциональное значение. Важно отметить, что вследствие узости полос поглощения в самой длинноволновой области нельзя считать обусловленным «хвостами» коротковолновых форм: поглощение форм Хл 676 и Хл 683 в области за

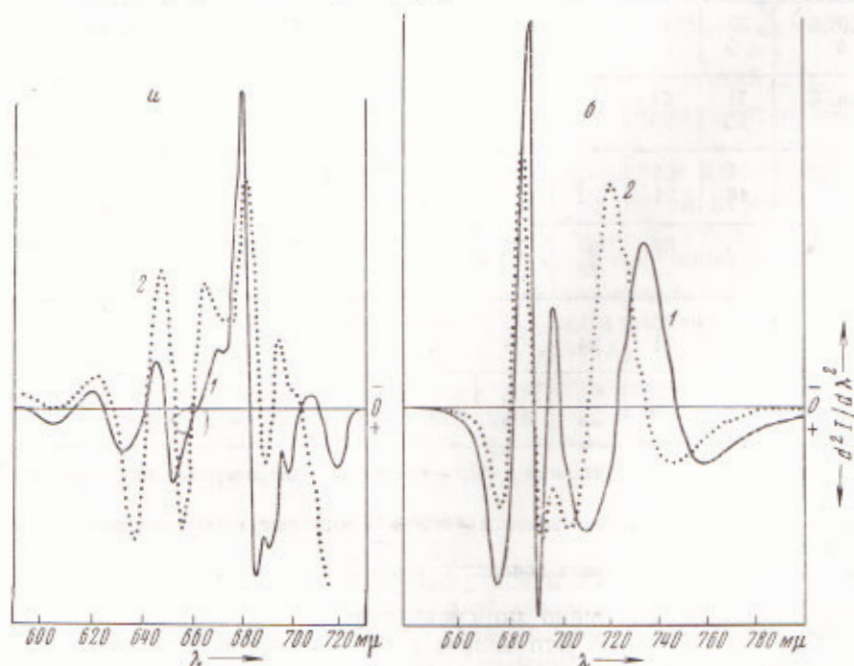


Рис. 2. Вторая производная спектров возбуждения люминесценции (а) и спектров люминесценции (б) при 77° К для гомогената листа фасоли (1) и суспензии хлореллы (2)

Таблица 2

Доля поглощения света нативными формами хлорофилла а в красной области спектра ($\lambda > 650$ м μ) при $+20^\circ$

Вид	Формы Хл а, м μ							
	662	670	676	683	686	693	702	715
<i>Phaseolus vulgaris</i> (гомогенат)	0,17	0,22	0,28	0,20	0,03	0,07	0,03	0,01
<i>Chlorella vulgaris</i> (суспензия)	0,17	0,31	0,15	0,22	0,02	0,08	0,03	0,01
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (суспензия)	0,21	0,17	0,22	0,11	0,09	0,13	0,05	0,01
<i>Ulva lactuca</i> (таллом)	0,22	0,14	0,27	0,13	0,06	0,12	0,04	0,01

Таблица 3

Относительные значения интеграла перекрытия спектров и констант скоростей миграции энергии между нативными формами хлорофилла а (a'_{jn})

Акцептор (j)	Донор (n)										
	Хл648 1	Хл662 2	Хл670 3	Хл676 4	Хл683 5	Хл686 6	Хл693 7	Хл702 8	Хл712 9	Хл720 10	Хл745 11
Хл648 1	277	18 11	5 4	5 6							
Хл662 2	95 59	452	37 38	7 11	5 5						
Хл670 3	64 47	121 124	406	34 65	12 14	5 2					
Хл676 3	54 66	91 146	119 210	603	27 50	7 5					
Хл683 5	44 34	49 53	77 94	80 178	241	10 4	5 3				
Хл686 6	53 9	37 12	63 25	92 72	72 31	23	12 1	≤ 5 ≤ 1			
Хл693 7	71 20	47 23	54 31	90 92	97 61	48 5	25	18 2	10 < 1		
Хл702 8	94 16	65 21	54 22	64 50	61 27	107 4	83 8	5	56 < 1		
Хл712 9	95 11	88 22	69 22	54 20	39 14	64 1	99 6	107 2	< 1	≤ 5 ≤ 1	
Хл720 10	89 9	94 21	81 24	78 49	40 13	45 < 1	74 4	117 1	113 ≤ 1	0	≤ 5 ≤ 1
Хл745 11	65 6	83 19	90 26	96 60	82 26	63 < 1	53 3	61 < 1	57 ≤ 1	121 ≤ 1	0

Примечание. Диагональные члены — суммы констант миграции по соответствующему столбцу $\sum_{j=1}^{11} a'_{jn}$, свободные клетки таблицы — значения интеграла перекрытия < 5 и констант миграции ≤ 1 (последние в суммах констант миграции не учитывались).

700 м μ пренебрежимо мало по сравнению с собственным поглощением форм Хл 702 и Хл 715. Это может иметь значение для интерпретации спектров эффекта Эмерсона и оценки роли длинноволновых форм.

Теоретическую оценку относительной эффективности миграции между формами осуществляли исходя из предпо-

ложений об индуктивно-резонансном механизме, статистическом расположении форм и на основе изложенных выше данных. В табл. 3 первая сверху цифра в клетке — относительная величина интеграла перекрытия разных пар форм (за 100 ед. принят интеграл для пары хлорофилл *a* — хлорофилл *b* в растворе). Она оказывается неожиданно высокой, что объясняется наличием в спектре люминесценции и поглощения каждой формы двух далеко расставленных полос. Из рассмотрения этих цифр следует: 1) миграция энергии «вниз» — от коротковолновых к длинноволновым центрам потенциально возможна в пределах всей системы форм; наибольшее перекрытие характерно либо для ближайших (спектрально), либо для наиболее далеких форм; оно уменьшается для пар, разделенных 20—30 мк; 2) миграция «вверх» эффективна в пределах не более двух спектрально близких форм. В качестве второго, концентрационного, фактора взято значение функции относительных концентраций пигмента в формах, служащих донором (C_D) и акцептором (C_A) энергии (для фасоли): $(C_A + C_D)^2$. Оно отражает влияние относительного расстояния между центрами $(C_A + C_D)^2 R^{-6}$. Концентрационный фактор резко увеличивает относительную вероятность переноса энергии между основными поглощающими формами, ослабляет сток ее на самые длинноволновые акцепторы и резко уменьшает вероятность переноса энергии между длинноволновыми формами. Действие его еще более усилится, если принять длинноволновые формы-агрегаты состоящими из двух и более молекул. Произведение обоих факторов, определяющих эффективность миграции, выражено нижней цифрой в каждой клетке табл. 3.

Для описания действительных путей миграции необходимо решение системы уравнений, учитывающих одновременное взаимодействие всех форм. Эти уравнения, описывающие взаимосвязь возбужденных состояний форм в системе при условии стационарности, можно представить в виде

$$K_{d_1} C_1^* = I_0 \sigma C_1 + C_1 \sum_{n=2}^{11} a_{jn} C_n^* - C_1^* \sum_{j=1}^{11} a_{jn} C_j; \quad K_{d_j} C_j^* = C_j \sum_{n=1}^{11} a_{jn} C_n^* - C_j^* \sum_{j=1}^{11} a_{jn} C_j \quad (a_{jn} = 0 \text{ при } j = n); \quad \sum_{j=1}^{11} K_{d_j} C_j^* = I_0 \sigma C_1; \quad \sum_{j=1}^{11} C_j = C_{\text{общ}},$$

где $I_0 \sigma$, $K_d = (K_r + K_i + K_f)_{jj}$ и a_{jn} — константы скоростей поглощения, диссипации и передачи энергии, C_i , C_j , C_i^* , C_j^* — концентрации невозбужденных и возбужденных состояний форм.

Относительные значения K_{d_j} могут быть получены при подстановке в уравнения относительных значений констант скоростей переноса энергии ($|a_{jn}| = P |a'_{jn}|$, коэффициенты a'_{jn} из табл. 3) и относительных концентраций невозбужденных ($C_{\text{в.отн}}$) и возбужденных состояний форм ($C_{\text{ф.отн}}^*$). Последние определяются по разложению спектра люминесценции.

Для фотосинтетических организмов с высоким квантовым выходом первичного фотохимического процесса ($K_d \gg K_i + K_f$) величины K_{d_j} должны указывать на относительную эффективность использования энергии данной формой. Можно полагать, что при выполнении указанных выше условий формы с относительно высоким значением K_{d_j} непосредственно связаны с фотохимическими центрами фотосинтеза.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
22 IX 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ф. Ф. Литвин, Б. А. Гуляев, ДАН, 189, № 6, 1385 (1969). ² Ф. Ф. Литвин, Б. А. Гуляев, Н. В. Карнеева, Научн. докл. высшей школы, Биол. науки, № 4, 95 (1970). ³ W. L. Butler, Biochem. Biophys. Res. Commun., 3, 685 (1960). ⁴ Ф. Ф. Литвин, В. А. Синецков, ДАН, 175, № 5, 1175 (1967). ⁵ Ф. Ф. Литвин, В. А. Синецков, Биофизика, 12, № 3, 433 (1967).