

А. В. Полищук, Н. Н. Топчий,
академик НАН Украины К. М. Сытник

Влияние ионов тяжелых металлов на перенос электронов на акцепторной стороне фотосистемы II

Досліджено вплив іонів Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} і Hg^{2+} на кінетику реокиснення Q_A^- і відносний вміст Q_B -невідновлюючих комплексів у хлоропластах гороху. Показано, що за дії іонів Cu^{2+} (50 і 200 мкМ) і Hg^{2+} (5 і 20 мкМ) відбувається прискорення швидкої і проміжної компонент, тоді як амплітуда швидкої фази збільшується за рахунок проміжної і повільної. Іони Zn^{2+} , Pb^{2+} і Cd^{2+} (50 і 200 мкМ) викликають сповільнення швидкої і середньої компонент, при цьому амплітуда повільної фази збільшується, а проміжної і швидкої — зменшується. Іони Cu^{2+} , Hg^{2+} і Cd^{2+} майже не впливають на вміст Q_B -невідновлюючих комплексів, тоді як за дії іонів Zn^{2+} і Pb^{2+} ця величина різко зростає. Встановлено, що іони важких металів, залежно від їх редокс-потенціалу, по-різному впливають на електронний транспорт між Q_A і Q_B . Більш електронегативні Zn^{2+} , Cd^{2+} і Pb^{2+} інгібують електронний транспорт, а більш електропозитивні Cu^{2+} і Hg^{2+} прискорюють його. Це, можливо, обумовлено тим, що при порушенні транспорту електронів між Q_A^- і Q_B іони Cu^{2+} і Hg^{2+} здатні акцептувати електрони безпосередньо від Q_A^- .

Микроколичества ионов некоторых тяжелых металлов (Me^{2+}) необходимы для роста и развития растений. Они, в частности, играют важную кофакторную роль при фотосинтезе: медь входит в состав переносчика электронов пластоцианина, а цинк — супероксиддисмутазы и карбоангидразы. Однако при повышенном содержании этих металлов в воде или почве многие физиологические процессы в растениях нарушаются.

Имеющиеся данные по влиянию Me^{2+} на уровне фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) свидетельствуют о том, что наиболее уязвимым ее участком является фотосистема II (ФСII). Процессы восстановления и протонирования вторичного хинонового акцептора Q_B успешно изучаются на бактериальных реакционных центрах (БРЦ) с использованием ионов тяжелых металлов. Методами ЭПР спектроскопии и рентгеновской дифракции были определены места связывания ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} и Cd^{2+} на акцепторной стороне БРЦ [1, 2]. Показано, что Zn^{2+} и Cd^{2+} , связываясь стехиометрически с БРЦ, блокируют поглощение протонов и ингибируют скорость переноса электронов от первичного хинонового акцептора Q_A^- к Q_B [3].

У высших растений особенности связывания переходных металлов с акцепторной стороной суперкомплекса ФСII изучены гораздо хуже. Существуют некоторые данные относительно влияния ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} [4–6] на перенос электронов на акцепторной стороне, но мало известно о действии других тяжелых металлов. В частности, ионы Cu^{2+} и Zn^{2+} , связываясь в области Fe^{2+} -сайта между Q_A и Q_B , могут вызывать смещение негемового железа, регистрируемое как исчезновение ЭПР сигнала, принадлежащего Q_A^- - Fe^{2+} в частицах ФСII, не содержащих марганца [5]. Ионы Cu^{2+} ингибируют рекомбинацию заряда

водоокисляющего комплекса ФСII с Q_B^- , в отличие от его рекомбинации с Q_A^- [4], установлено, что ионы Cu^{2+} не блокируют перенос электронов между Q_A и Q_B , а модифицируют Q_B -центр. Также показано, что Cu^{2+} [7] и Zn^{2+} [8] ингибируют светозависимое поглощение протонов вторичным хиновым акцептором Q_B в значительно большей степени, чем выделение кислорода.

Наиболее информативными методами в исследовании механизмов действия тяжелых металлов на электронный транспорт на акцепторной стороне ФСII являются измерение релаксации флуоресценции хлорофилла и определение относительного содержания Q_B -восстанавливающих реакционных центров ФСII. Процессы релаксации и индукции флуоресценции связаны (прямо или обратно соответственно) с реокислением первичного хинового акцептора Q_A^- , в связи с чем изменение их кинетических характеристик может быть следствием модификации акцепторной стороны ФСII.

Ранее нами было выдвинуто предположение, что ионы Cu^{2+} блокируют перенос электронов от Q_A^- к Q_B и индуцируют альтернативный электронный путь от Q_A^- до экзогенного акцептора, поскольку поглощение протонов, которое зависит от восстановления пластохинона, ингибировалось [7].

В настоящей работе приведены результаты изучения влияния ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} и Hg^{2+} на кинетику реокисления Q_A^- и количество Q_B -восстанавливающих центров ФСII с целью уточнения механизмов действия тяжелых металлов на процесс фотосинтетического переноса электронов между Q_A и Q_B .

Хлоропласты класса "С" изолировали из листьев 15-дневных проростков гороха (*Pisum sativum* L.) в среде, содержащей 300 мМ сорбитола, 10 мМ NaCl, 15 мМ аскорбата натрия, 10 мМ *трис*-HCl (pH 7,8). Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин (2500 g) в течение 10 мин. Далее хлоропласты ресуспендировали в среде, содержащей 100 мМ сорбитола, 10 мМ NaCl, 10 мМ *трис*-HCl (pH 7,8) и 0,5 мМ ЭДТА для удаления слабосвязанных и растворенных ионов тяжелых металлов. Отмывку от ЭДТА проводили в среде аналогичного состава, за исключением ЭДТА. Реакционная среда (2 мл) содержала 100 мМ сорбитола, 10 мМ NaCl, 10 мМ *трис*-HCl (pH 7,8) и хлоропласты, количество которых было эквивалентно 20 мкг хлорофилла. Концентрацию хлорофилла определяли по Арнону [9]. Период темновой адаптации хлоропластов перед добавлением солей тяжелых металлов составлял 5 мин. Время инкубации образцов с металлами — меньше 30 с.

Модулированную флуоресценцию хлорофилла измеряли с помощью Хе-РАМ флуориметра ("Walz", Германия). Кинетику реокисления Q_A^- изучали по темновой релаксации флуоресценции, индуцированной 600 мс насыщающей вспышкой (11000 мкмоль/(м²·с)) при частоте возбуждающих вспышек 64 Гц. Кинетические кривые разлагали на три компоненты, определяли их относительную амплитуду (A) и время полуспада ($t_{1/2}$) с помощью специально написанной программы и избирательно контролировали программой Origin v. 6.1. Количество Q_B -восстанавливающих центров ФСII в изолированных хлоропластах рассчитывали по методике Томека [10] в присутствии 2 мМ феррицианида калия (для определения F_{pl}) и 10 мкМ диурона (для определения F_m) при частоте возбуждающих вспышек 2 Гц. Плотность потока фотонов действующего света составляла 40 мкмоль/(м²·с).

Полученные результаты представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка. Количество аналитических повторностей в опыте — не менее трех.

При освещении листьев и хлоропластов, адаптированных к темноте, происходит увеличение уровня флуоресценции, связанное с накоплением восстановленного первичного хинового акцептора ФСII, Q_A^- . Под действием мощного света в нарастании флуоресценции

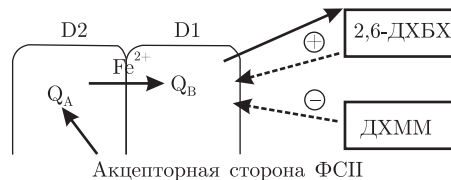


Рис. 1. Q_B сайт — место действия 2,6-ДХБХ и ДХММ. 2,6-ДХБХ акцептирует электроны от Q_B , ДХММ блокирует связывание пластохинона и электронный транспорт. Сплошные линии показывают транспорт электронов, штриховые — действие реагентов

отмечается несколько хорошо выраженных фаз, связанных с гетерогенностью акцепторной стороны ФСII [11]. После выключения действующего света наблюдается многокомпонентный темновой спад флуоресценции, который отображает пути реокисления Q_A^- .

После однократного возбуждения реакционного центра короткой (~ 50 мкс) интенсивной вспышкой окисление Q_A^- сопровождается быстрой релаксацией флуоресценции за счет переноса электронов с Q_A^- на Q_B . Более сложная ситуация наблюдается при многократном возбуждении ФСII. Восстановленные молекулы Q_B передают электроны в пластохиноновый пул. Поэтому степень восстановленности Q_B зависит от редокс-состояния этого пула. Его окисление зависит, в свою очередь, от линейного электронного транспорта через ФСI. Таким образом, кинетика реокисления Q_A^- , измеренная по темновой релаксации флуоресценции хлорофилла, контролируется редокс-состоянием Q_B и пластохинонового пула [12].

После многократных вспышек света отмечается несколько (обычно четыре) компонент окисления Q_A^- , релаксирующих с разным временем полуспада. Относительные амплитуды этих компонент связаны с акцептирующими способностями ФСI и, возможно, ФСII. Быстрая фаза, затухающая в течение нескольких миллисекунд после завершения освещения, ускоряется при освещении дальним красным светом, который поглощается преимущественно ФСI, и в присутствии метилвиологена — акцептора с ФСI [12]. В наших исследованиях с помощью программы Origin 6.1. выявлялись, как правило, три компонента (быстрая, средняя и медленная) темнового тушения флуоресценции с различным временем полуспада. Для определения связи этих компонент с электронным переносом по направлению от Q_A^- мы исследовали влияние акцептора электронов 2,6-дихлор-р-бензохинона (2,6-ДХБХ) и ингибитора ФСII 3-(3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилмочевины (ДХММ) (рис. 1) на кинетику темновой релаксации флуоресценции хлорофилла. Кривые релаксации с логарифмической шкалой времени приведены на рис. 2. Быстрая компонента тушения флуоресценции контрольных хлоропластов составляла приблизительно 60% максимального квантового выхода. При действии акцептора 2,6-ДХБХ происходило ускорение быстрой компоненты релаксации флуоресценции, тогда как ингибитор замедлял и уменьшал ее вклад (см. рис. 2). Это свидетельствует о том, что быстрая компонента должна быть связана с линейным электронным транспортом от ФСII.

Результаты измерения релаксации флуоресценции хлорофилла при действии ионов тяжелых металлов, а также акцептора 2,6-ДХБХ приведены на рис. 3. Время полуспада и амплитуда быстрой, средней и медленной компонент темновой релаксации флуоресценции хлорофилла сильно изменялось после добавления тяжелых металлов к реакционной среде (табл. 1, 2). В контрольных хлоропластах время полуспада быстрой, средней и медленной компонент составляло 282,50 мс, 1,71 с и 28,31 с, а их относительный вклад в флуоресценцию — 56,81, 36,56 и 6,63% соответственно.

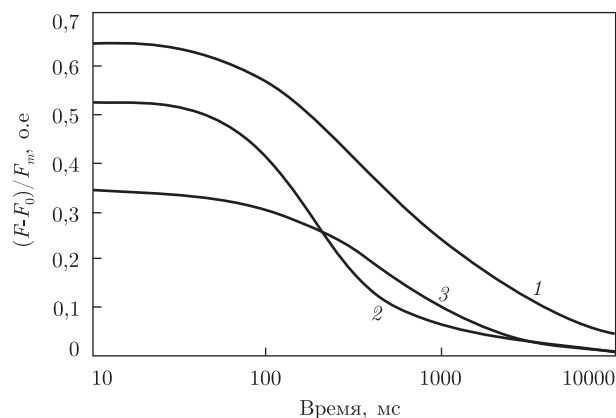


Рис. 2. Кривые релаксации флуоресценции хлорофилла контрольных хлоропластов (1), при действии 50 мкМ 2,6-ДХБХ (2) и 0,5 мкМ ДХММ (3)

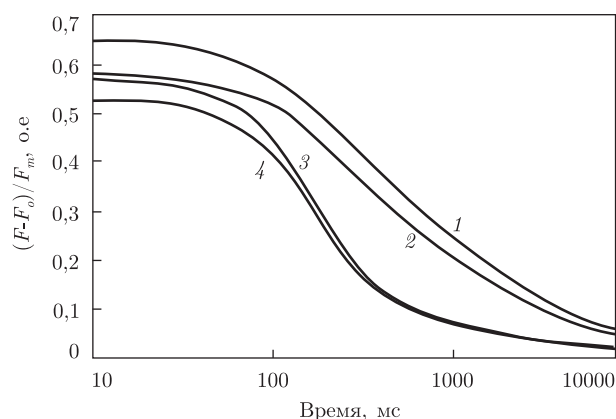


Рис. 3. Кривые релаксации флуоресценции хлорофилла контрольных хлоропластов (1), при действии 100 мкМ Zn^{2+} (2), 100 мкМ Cu^{2+} (3) и 50 мкМ 2,6-ДХБХ (4)

Согласно полученным данным, некоторые реагенты существенно снижали величину F_v/F_m (см. рис. 3, табл. 2), даже если их влияние не было связано с акцепторной стороной ФСII. Например, Pb^{2+} , возможно, ингибировал не только реокисление Q_A^- ($t_{1/2\text{быстр}} =$

Таблица 1. Влияние ионов тяжелых металлов на время полуспада индивидуальных компонентов темновой релаксации флуоресценции хлорофилла

Me^{2+}	$[Me^{2+}]$, мкМ	$t_{1/2\text{быстр}} \pm SE$, мс	$t_{1/2\text{средн}} \pm SE$, с	$t_{1/2\text{медл}} \pm SE$, с
Контроль	—	$282,50 \pm 15,72$	$1,71 \pm 0,05$	$28,31 \pm 1,98$
Zn	50	$335,71 \pm 16,47$	$1,76 \pm 0,07$	$24,59 \pm 1,67$
	200	$277,89 \pm 48,68$	$1,87 \pm 0,18$	$26,83 \pm 5,50$
Cd	50	$328,06 \pm 30,23$	$1,78 \pm 0,05$	$25,26 \pm 2,13$
	200	$448,07 \pm 21,21$	$2,23 \pm 0,01$	$51,94 \pm 13,26$
Pb	50	$325,57 \pm 46,46$	$1,94 \pm 0,07$	$31,24 \pm 2,47$
	200	$386,24 \pm 59,23$	$2,36 \pm 0,17$	$34,40 \pm 2,66$
Cu	50	$239,74 \pm 13,47$	$1,38 \pm 0,04$	$20,13 \pm 1,30$
	200	$148,27 \pm 21,50$	$1,22 \pm 0,14$	$15,83 \pm 1,94$
Hg	5	$287,92 \pm 20,22$	$1,68 \pm 0,04$	$30,37 \pm 0,95$
	20	$201,70 \pm 13,78$	$1,41 \pm 0,05$	$33,77 \pm 3,40$

= 386,24 мс, в контроле $t_{1/2\text{быстр}} = 282,50$), но и его восстановление [13], которое является функцией водоокисляющего комплекса. В присутствии ионов Cu^{2+} (50 мкМ), действующих подобно акцептору 2,6-ДХБХ, величина F_v/F_m снижалась ($F_v/F_m = 0,58 \pm 0,01$) по сравнению с контролем ($F_v/F_m = 0,65 \pm 0,01$) из-за ускоренного реокисления Q_A^- ($t_{1/2\text{быстр}} = 148,27$, почти в 2 раза меньше по сравнению с контролем). В отличие от этого, ионы Hg^{2+} в концентрации 5 мкМ почти не влияли на реокисление Q_A^- , а в концентрации 20 мкМ лишь незначительно ускоряли быструю компоненту тушения флуоресценции, что сопровождалось незначительным изменением потенциального квантового выхода флуоресценции ($F_v/F_m = 0,64 \pm 0,05$). Результаты экспериментов, проведенных *in vitro*, подтверждаются данными *in vivo* (при исследовании листьев растений, выращенных в присутствии CuSO_4 и ZnCl_2 , данные не приведены).

Таким образом, ионы металлов, использованные в нашем исследовании, разделяются на две группы: 1 — Cu^{2+} и Hg^{2+} ; 2 — Zn^{2+} , Pb^{2+} и Cd^{2+} . Ионы первой группы вызывали почти двукратное ускорение быстрой и промежуточной компонент, тогда как увеличение амплитуды быстрой фазы происходило за счет промежуточной и медленной компонент тушения флуоресценции. Ионы второй группы приводили к замедлению быстрой и промежуточной компонент, при этом амплитуда медленной фазы увеличивалась, а промежуточной и быстрой фаз — уменьшалась.

В то время как действие ионов второй группы на перенос электронов, по-видимому, состоит в ингибировании транспорта между Q_A^- и Q_B , влияние ионов первой группы имеет более сложную природу. Ускорение первой фазы тушения флуоресценции в присутствии ионов этой группы может быть вызвано появлением нового оттока электронов от Q_A^- . Таким образом, ионы Cu и Hg способны принимать электроны от Q_A^- . Эта способность для Cu^{2+} подтверждается результатами ЭПР спектроскопии [5]. При обработке препаратов ФСII, не содержащих марганец, ионами Cu^{2+} , связывающимися в области Fe^{2+} -сайта, светоиндуцированный ЭПР сигнал Q_A^- исчезает, что свидетельствует об акцептировании электронов ионами Cu^{2+} от Q_A^- . Появление ЭПР сигнала Q_A^- (вместо Q_A^- - Fe^{2+}) при действии ионов Zn^{2+} указывает на ингибирование переноса электронов между Q_A^- и Q_B [5]. Способность ионов Me^{2+} принимать электроны непосредственно от Q_A^- обусловлено разностью редокс-потенциалов Me^{2+} и Q_A^- . Эксперименты по определению среднеточечного редокс-потенциала (E_m) Q_A в тилакоидах по флуоресцентным кривым титрования показали, что его величина

Таблица 2. Влияние ионов тяжелых металлов на амплитуду индивидуальных компонентов темновой релаксации флуоресценции хлорофилла и максимальный квантовый выход

Me^{2+}	$[\text{Me}^{2+}]$, мкМ	$A_{\text{быстр}} \pm \text{SE}$, %	$A_{\text{средн}} \pm \text{SE}$, %	$A_{\text{медл}} \pm \text{SE}$, %	$\frac{F_v}{F_m} \pm \text{SE}$
Контроль	—	$56,81 \pm 2,14$	$36,56 \pm 0,73$	$6,63 \pm 0,22$	$0,65 \pm 0,01$
Zn	50	$58,46 \pm 1,76$	$33,63 \pm 1,00$	$7,90 \pm 0,07$	$0,66 \pm 0,01$
	200	$56,45 \pm 9,22$	$34,41 \pm 1,26$	$9,15 \pm 0,88$	$0,67 \pm 0,03$
Cd	50	$58,17 \pm 6,99$	$34,30 \pm 1,81$	$7,54 \pm 0,21$	$0,68 \pm 0,02$
	200	$57,87 \pm 4,39$	$32,72 \pm 0,34$	$9,41 \pm 0,18$	$0,69 \pm 0,03$
Pb	50	$52,67 \pm 5,38$	$35,77 \pm 0,68$	$11,57 \pm 0,16$	$0,65 \pm 0,01$
	200	$56,06 \pm 3,40$	$28,65 \pm 1,32$	$15,29 \pm 0,17$	$0,59 \pm 0,02$
Cu	50	$67,69 \pm 1,76$	$26,18 \pm 1,61$	$6,13 \pm 0,29$	$0,58 \pm 0,01$
	200	$83,36 \pm 12,84$	$12,97 \pm 0,71$	$3,67 \pm 0,05$	$0,58 \pm 0,05$
Hg	5	$63,51 \pm 1,12$	$29,35 \pm 0,57$	$7,14 \pm 0,20$	$0,64 \pm 0,01$
	20	$75,27 \pm 13,32$	$17,75 \pm 0,06$	$6,99 \pm 0,36$	$0,62 \pm 0,05$

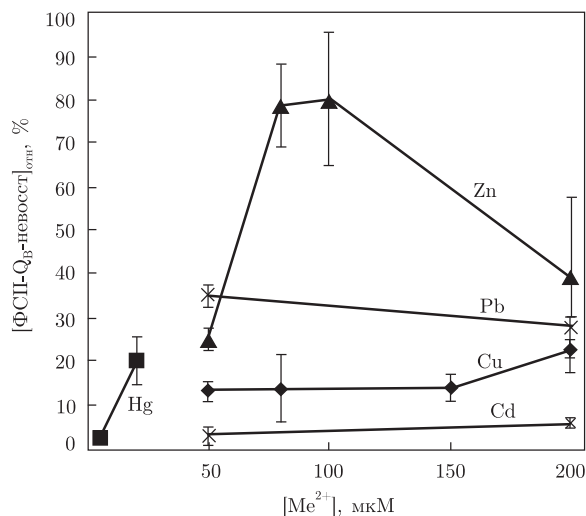


Рис. 4. Влияние ионов тяжелых металлов на относительное содержание Q_B -невосстанавливающих центров ФСII

на изменчива и зависит от состояния ФСII. Так, в центрах с активным водоокисляющим комплексом величина E_m (Q_A/Q_A^-) составляет -80 мВ, тогда как в неактивных центрах — $+65$ мВ [14]. В присутствии фенольных гербицидов потенциал Q_A^- снижается приблизительно на 45 мВ ($E_m = -125$ мВ), а в присутствии ДХММ — увеличивается на 50 мВ ($E_m = -30$ мВ) [15]. В препаратах ФСII, не содержащих марганец, потенциал ионов Cu^{2+} повышается при связывании в области Fe^{2+} -сайта, в результате чего они приобретают способность принимать электроны от Q_A^- , а также восстанавливаться дитионитом [5].

Результаты настоящей работы указывают на облегченное реокисление Q_A^- в присутствии ионов Cu и, в меньшей степени, Hg , очевидно, в обход сайта Q_B и следующих за ним переносчиков. Таким образом, ионы этих металлов могут акцептировать электроны от Q_A^- .

Гетерогенность комплексов ФСII связана с постоянно протекающим циклом разрушения и репарации белка D1, являющегося местом локализации вторичного хинонового акцептора Q_B . При его деградации перенос электронов между Q_A и Q_B становится невозможным. Центры ФСII, не способные к восстановлению Q_B , называются Q_B -невосстанавливающими. При нормальных физиологических условиях количество неактивных центров ФСII в хлоропластах растений колеблется от 10 до 35% и определяется балансом между их разрушением и репарацией. Поскольку Me^{2+} действуют на участке между Q_A и Q_B , можно предположить, что они влияют на количество активных комплексов ФСII.

Для исследования влияния тяжелых металлов на восстановление Q_B в изолированных хлоропластах использовали метод Томека и др. [10]. Любое нарушение переноса электронов между Q_A^- и Q_B должно, на наш взгляд, приводить к повышению уровня F_{pl} , в отличие от уровней F_0 и F_m . И следовательно, любое увеличение относительного содержания Q_B -невосстанавливающих центров ФСII ($[ФСП-Q_B-невосст]_{отн}$) должно отображать ингибирование переноса электронов на уровне акцепторной стороны ФСII.

В наших экспериментах величина $[ФСП-Q_B-невосст]_{отн}$ в контроле составляла 20 – 45% . В присутствии ионов Cu^{2+} , Hg^{2+} и Cd^{2+} количество $[ФСП-Q_B-невосст]_{отн}$ незначительно повышалось, тогда как в присутствии ионов Zn^{2+} и Pb^{2+} — резко возрастало — более чем на 25% (рис. 4). Это позволило предположить, что при действии ионов Cu^{2+} и Cd^{2+}

ингибирование переноса электронов было несущественным и не приводило к увеличению $[\text{ФСII-Q}_B\text{-невосст}]_{\text{отн}}$. В то же время ионы Hg^{2+} вызывали неспецифическое повреждение ФСII, а добавление Zn^{2+} приводило к визуально наблюдаемой агрегации хлоропластов, которая сопровождалась значительным тушением флуоресценции хлорофилла (данные не приведены). Этот эффект трудно объяснить. Маловероятно, что Zn^{2+} в концентрации 200 мкМ способен хотя бы частично замещать Mg^{2+} в молекуле хлорофилла в препаратах хлоропластов, что могло бы объяснить снижение уровня флуоресценции.

Стоит упомянуть, что акцептирование электронов ионами Cu^{2+} или Hg^{2+} должно быть связано с одновременным снижением величин F_m , а также F_{pl} , тогда как величина $[\text{ФСII-Q}_B\text{-невосст}]_{\text{отн}}$ должна оставаться почти неизменной, что согласуется с полученными нами результатами.

Таким образом, в работе впервые показано, что ионы тяжелых металлов, в зависимости от их редокс-потенциала, по-разному влияют на электронный перенос в ФСII. Более электроотрицательные Zn^{2+} ($E^0 = -0,763$ В), Cd^{2+} ($E^0 = -0,403$ В) и Pb^{2+} ($E^0 = -0,126$ В) ингибируют электронный транспорт, а более электроположительные Cu^{2+} ($E^0 = +0,153$ В) и Hg^{2+} ($E^0 = +0,427$ В) ускоряют его. Одним из возможных объяснений этого является предположение о том, что в случае нарушения переноса электронов между Q_A^- и Q_B ионы Cu^{2+} и Hg^{2+} способны акцептировать электроны непосредственно от Q_A^- .

1. *Axelrod H. L., Abresch E. C., Paddock M. L. et al.* Determination of the binding sites of the proton transfer inhibitors Cd^{2+} and Zn^{2+} in bacterial reaction centers // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, No 4. – P. 1542–1547.
2. *Utschig L. M., Poluektov O., Schlesselman S. L. et al.* Cu^{2+} site in photosynthetic bacterial reaction centers from *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodobacter capsulatus*, and *Rhodospseudomonas viridis* // Biochemistry. – 2001. – **40**, No 20. – P. 6132–6141.
3. *Paddock M. L., Graige M. S., Feher G., Okamura M. Y.* Identification of the proton pathway in bacterial reaction centers: Inhibition of proton transfer by binding of Zn^{2+} or Cd^{2+} // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1999. – **96**, No 11. – P. 6183–6188.
4. *Mohanti N., Vass I., Demeter S.* Copper toxicity affects photosystem II electron transport at the secondary quinone acceptor, Q_B // Plant Physiol. – 1989. – **90**. – P. 175–179.
5. *Jegerschöld C., MacMillan F., Lubitz W., Rutherford A. W.* Effects of copper and zinc ions on photosystem II studied by EPR spectroscopy // Biochemistry. – 1999. – **38**, No 38. – P. 12439–12445.
6. *Yruela I., Gatzert G., Picorel R., Holzwarth A. R.* Cu(II) -inhibitory effect on photosystem II from higher plants. A picosecond time-resolved fluorescence study // Biochemistry. – 1996. – **35**, No 29. – P. 9469–9474.
7. *Подорванов В. В., Полищук А. В., Золотарева Е. К.* Влияние ионов меди на светоиндуцированный протонный перенос в хлоропластах шпината // Биофизика. – 2007. – **52**, № 6. – С. 1049–1053.
8. *Полищук О. В., Подорванов В. В., Ситник С. К.* Вплив іонів цинку на перенесення протонів в ізольованих хлоропластах шпинату // Доп. НАН України. – 2007. – № 8. – С. 170–175.
9. *Arnon D. I.* Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* // Plant Physiol. – 1949. – **24**, No 1. – P. 1–15.
10. *Tomek P., Ilik P., Lazár D. et al.* On the determination of Q_B -non-reducing photosystem II centers from chlorophyll a fluorescence induction // Plant Sci. – 2003. – **164**. – P. 665–670.
11. *Zhu X. G., Govindjee, Baker N. R. et al.* Chlorophyll a fluorescence induction kinetics in leaves predicted from a model describing each discrete step of excitation energy and electron transfer associated with Photosystem II // Planta. – 2005. – **223**. – P. 114–133.
12. *Bukhov N. G., Egorova E., Krendeleva T. et al.* Relaxation of variable chlorophyll fluorescence after illumination of dark-adapted barley leaves as influenced by the redox states of electron carriers // Photosynth. Res. – 2001. – **70**. – P. 155–166.
13. *Miller M.* The release of polypeptides and manganese from oxygen-evolving photosystem II preparations following zinc-treatment // FEBS Lett. – 1985. – **189**, No 2. – P. 355–360.
14. *Krieger A., Rutherford A. W., Johnson G. N.* On the determination of redox midpoint potential of the primary quinone electron acceptor, Q_A , in Photosystem II // Biochim. et biophys. acta. – 1995. – **1229**. – P. 193–201.

15. Krieger-Liszka A., Rutherford A. W. Influence of herbicide binding on the redox potential of the quinone acceptor in photosystem II: relevance to photodamage and phytotoxicity // *Biochemistry*. – 1998. – **37**, No 50. – P. 17339–17344.

*Институт ботаники им. Н. Г. Холодного
НАН Украины, Киев*

Поступило в редакцию 10.02.2009

A. V. Polishchuk, N. N. Topchiy,
Academician of the NAS of Ukraine **K. M. Sytnik**

Effect of heavy metal ions on electron transfer on the acceptor side of photosystem II

Effect of copper, zinc, lead, cadmium, and mercury ions on the chlorophyll fluorescence dark-relaxation kinetics and the relative content of Q_B -non-reducing photosystem II (PSII) in pea thylakoids has been studied. Copper (50 and 200 μM) and mercury (5 and 20 μM) ions induced the nearly 2-fold acceleration of the fast and intermediate phases, while the amplitude of the fast phase increased at the expense of the intermediate and slow phases of the decay. Zinc, lead, cadmium (50 and 200 μM) ions caused an increase in the amplitude of the slow phase and decelerated the intermediate and fast phases. Copper, mercury and cadmium ions, unlike zinc and lead ions, almost did not affect the Q_B -non-reducing PSII content. We showed that more electronegative Zn^{2+} ($E^0 = -0.763 V$), Cd^{2+} ($E^0 = -0.403 V$), and Pb^{2+} ($E^0 = -0.126 V$) inhibit the electron transfer between Q_A and Q_B , and more electropositive Cu^{2+} ($E^0 = +0.153 V$) and Hg^{2+} ($E^0 = +0.427 V$) exhibit the stimulatory action. One of the possible explanations is that Cu^{2+} and Hg^{2+} can accept electrons from Q_A^- in case if the electron transfer between Q_A^- and Q_B is impaired.