

مدل‌سازی کینتیکی فرایند کاهندگی غیرفتوشیمیایی فتوستنز در پاسخ به تغییر شرایط نوری در گیاه آرابیدوپسیس از دیدگاه زیست‌شناسی سیستمی

سمیه حیدری^۱ - سیدحسین مرعشی^{۲*} - سعید ملک‌زاده شفارودی^۳ - مصطفی قادری زفره‌ای^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۷

چکیده

کارایی فتوستنز به‌میزان زیادی به‌شرایط محیط زندگی گیاه بستگی دارد. گیاهان در شرایط طبیعی، به‌سرعت در معرض تغییر شرایط نوری می‌باشند، برای مقابله با چنین نوساناتی و بهره‌برداری مؤثر از انرژی نورانی در دسترس و به‌طور هم‌زمان به‌حداقل رساندن خسارات ناشی از شدت نور بالا به‌دستگاه فتوستنزی، مکانیسم‌های سازگاری در آن‌ها گسترش یافته‌است. کاهندگی غیرفتوشیمیایی یک مکانیسم مهم است که انرژی اضافی را به‌صورت حرارت از گیاه خارج می‌کند. در این مقاله، مدل ریاضی بسیار ساده‌ای توسعه داده‌شده است که توصیف دقیق‌تری از این فرایند ارائه‌نموده و قادر به پیش‌بینی اجزای مختلف و پارامترهای مربوط به آن می‌باشد. مقایسه نتایج شبیه‌سازی با داده‌های تجربی نشان داد که کمپلکس برداشت‌نوری پروتونه‌شده و زآزانتین به‌طور هم‌زمان در القا و خاموشی فرایند NPQ عمل می‌کنند. نتایج حاصل می‌تواند به‌عنوان پایه تئوری مناسبی برای توسعه مدل‌های دقیق‌تر و مطالعه مکانیسم‌های مولکولی فرایند سازگاری دستگاه فتوستنز به تغییر شرایط نوری، مورد استفاده قرارگیرد.

واژه‌های کلیدی: آرابیدوپسیس، فتوستنز، کاهندگی غیر فتوشیمیایی، مدل‌سازی

اختصارات: کاهندگی غیرفتوشیمیایی: Non-Photochemical Quenching (NPQ)، مراکز واکنش: Reaction Centers (RCs)، کمپلکس برداشت نور: Light Harvesting Complex Photosystems II (LHCII)

مقدمه

گیاهان برای سازگار شدن با شدت‌های نوری بالا، روش کاهندگی غیرفتوشیمیایی (NPQ) می‌باشد که طی آن انرژی نورانی به‌صورت گرما به‌هدر می‌رود (Barber and Andersson, 1992; Horton *et al.*, 1996; Niyogi 2000; Ruban *et al.*, 2007). این فرایند از سه‌جزء تشکیل شده است، که شامل کاهندگی وابسته به انرژی (qE)، کاهندگی تغییر وضعیت (qT) و کاهندگی بازدارندگی نوری (qI) می‌باشد. qE اصلی‌ترین بخش NPQ می‌باشد که توسط شیب پروتون (ΔpH) در غشاء تیلاکوئیدی القا می‌شود و با قطع نور و آغاز تاریکی، در طی چندثانیه تا چنددقیقه خاموش می‌شود (Muller and Niyogi, 2001). تغییر "وضعیت جمع‌آوری نور" در مراکز واکنش به "وضعیت کاهندگی"، توسط تغییر کنفورماسیونی در کمپلکس جمع‌کننده نور (LHCII) در فتوسیستم II و هم‌چنین زانتوفیل‌ها و پروتئین PsbS در طی چندثانیه صورت می‌گیرد (Demmig-Adams, 1990; Johnson *et al.*, 2008; Niyogi, 1999). میزان پایین pH در سمت لومن تیلاکوئید موجب فعال شدن چرخه زانتوفیل و تولید زآزانتین از ویولازانتین از طریق فرایند داپوکسیداسیون

با تقاضای رو به رشد برای تولید غذا، افزایش راندمان تبدیل انرژی فتوستنز هم‌چنان به‌عنوان یک راه‌حل اساسی، جهت افزایش قابل توجه تولید محصولات کشاورزی است. کارایی فتوستنز به‌میزان زیادی به‌شرایط محیط‌زیستی گیاه بستگی دارد. نور یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی برای موجودات فتوستنزکننده است که تحت شرایط محیط طبیعی و در طی زمان متغیر می‌باشد (Dietzel *et al.*, 2008). دستگاه فتوستنزی می‌بایست به‌سرعت با این نوسانات سازگار شود تا بتواند مانع از تهییج بیش از حد و ایجاد خسارات جدی در مراکز واکنش خود گردد (Murchie *et al.*, 2009). عمده‌ترین روش

- ۱- دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - ۲- استاد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - ۳- دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
 - ۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
- *- نویسنده مسئول: (Email: marashi@um.ac.ir)

توسعه‌دادند که شامل واکنش‌های نوری، انتقال پروتون-الکترون، واکنش‌های آنزیمی و عملکردهای تنظیمی فتوسنتز گیاهان C3 می‌باشد که به صورت یک سیستم حاوی معادلات دیفرانسیل برای مدل کردن فلورسانس کلروفیل می‌باشد. این مدل توانست حالت پایدار فتوسنتز و فلورسانس کلروفیل تحت شرایط نوری متغیر و هم‌چنین غلظت‌های متفاوت CO₂ و O₂ را به خوبی شبیه‌سازی کند. اما هنوز برای شبیه‌سازی فرایندهایی مانند کینتک NPQ، کنترل فتوسنتزی اکسیداسیون پلاستوکوئینون و جریان چرخه‌های الکترون در فتوسیستم I کافی نیست.

بسیاری از مدل‌هایی که تاکنون ارائه شده، ما را قادر می‌سازد تا به یک درک کلی از فرایند فتوسنتز دست پیداکنیم. اخیراً در مطالعه *Ebenhoh et al, 2011* مدلی ارائه گردیده که به طور اختصاصی بر روی فرایند NPQ متمرکز شده است. در این مطالعه، یک مدل ساده از مکانیسم سازگاری کوتاه‌مدت به شدت نور بالا ارائه و زآزانتین را به عنوان عامل اصلی در طی فرایند NPQ در نظر گرفته شده است. به طور خلاصه مدل ساده شده *Ebenhoh et al, 2011*، توضیح تئوریک مفیدی از فتوسیستم II ارائه می‌کند که به همراه آن می‌توان ویژگی‌های دینامیک واکنش‌های نوری فتوسنتز و سازگاری دستگاه فتوسنتزی به نور بالا را مورد مطالعه قرارداد. این مدل می‌تواند به جنبه‌های بیش‌تری از فرایند NPQ بسط پیدا کند و یک پایه تئوری برای روش‌های آزمایشگاهی مطالعه اساس مولکولی NPQ باشد. بنابراین در مطالعه حاضر، مدل ریاضی *Ebenhoh et al, 2011* از طریق اضافه نمودن مکانیسم بازآرایی مولکول‌های آنتن، علاوه بر چرخه زانتوفیل در گیاهان و با استفاده از برنامه‌نویسی در محیط MATLAB ارتقا یافت. هم‌چنین نتایج پیش‌بینی این مدل برای تیمارهای مختلف نوری با نتایج آزمایشات تجربی مورد مقایسه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مدل

فرایند NPQ با فتوسیستم II درگیر و همراه است. بنابراین فقط فرایندهای نسبتاً سریع دخیل در فتوسیستم II از جمله تفکیک بار و تجزیه اکسیژن توسط یک وضعیت تقریبی نیمه‌پایدار مورد توجه قرار گرفت. مدل تا حد امکان ساده نگه داشته شد و اساس آن مشابه مدل *Ebenhoh et al, 2011* است و تغییراتی در بخش کاهنده مدل اعمال گردید (شکل ۱). در این مطالعه فرض بر مبنای افزایشی بودن اثر زآزانتین و کمپلکس برداشت نوری پروتونه شده، به عنوان عوامل کاهنده در مدل جدید، می‌باشد. بدین ترتیب که علاوه بر زآزانتین که نقش مستقیم در فرایند کاهندگی غیرفتوشیمیایی دارد، کمپلکس برداشت نوری پروتونه شده (Lp) نیز نقشی مستقیم در این فرایند بازی

می‌گردد. با کاهش شدت نور و در نتیجه کاهش شیب پروتون (ΔpH) عکس این فرایند یعنی تبدیل زآزانتین به ویولانتین طی فرایند اپوکسیداسیون، اما با سرعتی کم‌تر از داپوکسیداسیون، انجام می‌گیرد (*Kalituho et al., 2007*).

بخش عمده‌ای از دانش ما در مورد فتوسنتز از طریق رویکرد جزئی‌نگر به دست آمده است، که در آن هر جزء از سیستم جدا و به طور مستقل مورد مطالعه قرار گرفته است. از طریق این روش، اطلاعات دقیق بیوفیزیکی و بیوشیمیایی در مورد اجزای مختلف فتوسنتز به دست آمده است. هم‌زمان، بیوتکنولوژی مدرن ما را قادر می‌سازد تا به آسانی بیان تقریباً هر ژن دخیل در فتوسنتز را کاهش یا افزایش دهیم. حتی با تمام این ظرفیت‌ها و دانشی که داریم، ما هنوز تا مهندسی دقیق دستگاه فتوسنتز برای افزایش سرعت فتوسنتز فاصله زیادی داریم، چراکه کارایی تبدیل انرژی فتوسنتزی یک ویژگی سیستمی محسوب می‌شود و حاصل تعامل بین اجزای مختلف سیستم است و توسط هر یک از اجزای منحصر به فرد این سیستم تعیین نمی‌شود. ترکیبی از مدل‌های سیستمی با یک الگوریتم تکاملی، یک مکانیسم کارآمد و عملی برای شناسایی رویکردهای جدید جهت مهندسی فتوسنتز با کارایی بالاتر فراهم می‌کند (*Zhu, 2008*). توصیف فرایندهای زیستی توسط سیستم‌های معادلات دیفرانسیل دارای سابقه طولانی مدت است. معادلات دیفرانسیل سرعت تغییرات اجزای متغیر در یک سیستم را تعریف می‌کنند. مدل‌های متعدد ریاضی مبتنی بر معادلات دیفرانسیل برای شبیه‌سازی مسیرهای متابولیک، چرخه تنظیم‌کننده ژن و آبشار پیام‌رسانی توسعه یافته‌اند. هدف اصلی این دسته از مدل‌ها بررسی و تأیید فرضیه‌های موجود و انجام پیش‌بینی‌های کمی جدید است. انطباق نتایج مدل با آزمایشات، موجب اعتماد بیش‌تر به دانش موجود و عدم انطباق آن‌ها منجر به ارائه فرضیه‌هایی می‌شود که بازخورد دوباره آن‌ها منجر به بهبود توصیف مدل می‌گردد (*Pfau et al., 2011*). اغلب ساده‌ترین مدل‌ها درک اساسی تری نسبت به مکانیسم‌های زیربنایی یک حالت یا رفتار مشاهده شده را ارائه می‌دهند (*Rapoport et al., 1976*).

سنجش فلورسانس کلروفیل (FI) a به طور گسترده‌ای برای مطالعه فتوسنتز به کار می‌رود. کینتیک فلورسانس منعکس‌کننده عملکرد سراسری فتوسیستم II و NPQ است که به آسانی اندازه‌گیری می‌شود. مدل‌های متعددی از کینتیک فلورسانس کلروفیل، لومن، تیلاکوئید (*Belyaeva et al., 2008; Kuvykin et al., 2009; vanKooten et al., 1986; Zhu, 2008*) و NPQ وابسته به زآزانتین (*Ebenhoh, et al., 2011*) و qE (*Zaks, et al., 2012*) وجود دارد. *Zhu et al, 2005* مدلی را ارائه کردند که شامل تمام مراحل انتقال الکترون در داخل و اطراف فتوسیستم II است. این مدل توانست با موفقیت کینتیک‌های مشاهده شده در جریان سنجش فلورسانس را محاسبه کند. *Laisk et al, 2006* هم‌چنین یک مدل کامپیوتری را

کشت شد. آزمایشات اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل بر روی برگ‌های جدا شده از بوته سه‌هفته‌ای که به مدت حداقل پنج ساعت به تاریکی سازگار شده بودند، انجام گرفت. اندازه‌گیری‌ها توسط دستگاه فلورومتر (PAM-2000 Fluorometer، شرکت والتر آلمان) به همراه نرم‌افزار PamWin v.2 انجام شد. شدت نور ویژه اندازه‌گیری کمتر از $1 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ بود که در اولین ثانیه آغاز اندازه‌گیری روشن و مقدار Fm را مشخص نمود. سپس پالس اشباع‌نوری با شدت $2650 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ و طول 0.8 ثانیه و هر 30 ثانیه یک بار اعمال شد. در تیمارهای مختلف آزمایشی طول مدت اندازه‌گیری فلورسانس 10 دقیقه بود که شامل پنج دقیقه روشنائی و پنج دقیقه تاریکی بود. در زمان روشنائی از نور اکتینیک لامپ هالوژن خارجی به همراه یک فیلتر "راتن" برای محدود نمودن نور در طول موج 520 نانومتر، استفاده گردید. فلورسانس کلروفیل در فاصله طول موج $697 - 750$ نانومتر ثبت گردید (۱۳). پارامترهای مربوط به فلورسانس کلروفیل توسط نرم‌افزار PamWin و روابط جدول (۱) محاسبه و ثبت گردید. تیمارهای مختلف اعمال شده شامل به کارگیری شدت‌های نوری مختلف ($1 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ، 300 و 900) و همچنین مدت‌زمان‌های مختلف تابش نوری در سه تکرار تصادفی بودند.

نتایج و بحث

مدل‌های ریاضی موجود برای درک مکانیسم‌های دخیل در فتوسنتز II که موجب ایجاد سیگنال فلورسانس در مقیاس زمانی میکروثانیه می‌شوند، بسیار مؤثر بوده‌اند. در مطالعه حاضر، بر روی فرایند NPQ تمرکز شد و اجزای آن به طور ویژه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، فواصل زمانی به صورت ثانیه تا دقیقه و وضعیت مراکز واکنش (RCS) به صورت تقریباً ثابت و پایدار در نظر گرفته شد. در این پژوهش رویکرد ساده‌سازی در توصیف فرایند فتوستنتز دنبال، و مدل ساده شده Ebenhoh *et al.*, 2011 که قادر به تولید خواص بیولوژیکی کلیدی فرایند NPQ است، توسعه داده شد. در واقع از طریق توسعه مدل Ebenhoh *et al.*, 2011 که فرض آن وجود آزادانتین به عنوان تنها عامل کاهندگی می‌باشد، در این مطالعه مدل افزایشی بررسی و داده‌های تجربی مشابه با این فرضیه تولید و با داده‌های شبیه‌سازی مقایسه گردید.

پیش‌بینی اثر مدت‌زمان تابش نور بر فلورسانس کلروفیل

از آنجا که فلورسانس کلروفیل یک متغیر سیستم نیست، می‌توان آن را به صورت خروجی یک فرایند شبیه‌سازی محاسبه نمود. اگر یک مولکول کلروفیل با یک مرکز واکنش در ارتباط باشد، تهییج می‌شود. این انرژی می‌تواند یا برای تفکیک بار (فقط در مراکز واکنش باز)، منتشر شده به صورت نور، استفاده شود که منجر به فلورسانس

می‌کند. سپس معادلات دیفرانسیل جدید به معادلات اولیه اضافه شد. بنابراین در این مدل غلظت کمپلکس برداشت‌نوری پروتونه‌شده نیز در کنار آزادانتین به عنوان یک کاهنده در نظر گرفته شد و به عنوان متغیرهای جدید به مدل اضافه گردید. علاوه بر این اجزای qE که شامل qELP و qEZe است، نیز در مدل به صورت رابطه (۱) و (۲) تعریف گردید.

$$qELP = \alpha \times Lp \quad (1)$$

$$qEZ = \beta \times \frac{Z}{Z + K_z} \quad (2)$$

مقدار کاهندگی وابسته به انرژی (qE) در هر تیمار خاص نوری مساوی مجموع دو متغیر qELP و qEZe می‌باشد. در نهایت با هدف به دست آوردن مقدار کاهندگی کل (NPQ_{Tot}) از مقدار "کاهندگی انتقال وضعیت" (qT) که در اغلب گیاهان دارای مقدار ناچیزی می‌باشد، صرف نظر شد و طبق رابطه (۳) به دست آمد:

$$NPQ_{Tot} = qE + qI \quad (3)$$

در این مدل، وضعیت A3 می‌تواند تهییج شده و منجر به انتشار فلورسانس شود و بنابراین، در محاسبه سیگنال فلورسانس مورد استفاده قرار می‌گیرد. فعالیت عوامل کاهندگی غیرفتوشیمیایی کسری از انرژی تهییج ساطع شده به صورت گرما را تعیین می‌کنند، در حالی که بخش غیر کاهنده، (1 - qE)، به صورت فلورسانس ساطع می‌شود. بنابراین فرض می‌کنیم که سیگنال فلورسانس متناسب است با رابطه

$$F = (1 - qE) \times A3 + (1 - qE) \times (1 - k_1) \times A1 \quad (4)$$

که در آن k_1 برابر با حداکثر بخش نسبی انرژی تهییج است که به سمت تفکیک بار می‌رود و برابر با 0.86 است. یعنی از موقعیت A1 به سمت موقعیت A2 پیش می‌رود. بالاترین سیگنال اندازه‌گیری فلورسانس (F_m) را مساوی یک در نظر گرفته و داده‌های PAM با توجه به آن نرمال شدند. از آنجا که سیگنال فلورسانس توسط معادله ۶ تعریف شده است و قادر به بازتاب حداقل فلورسانس کلروفیل (F_0) در تاریکی نیست. از این رو پایین‌ترین مقدار اندازه‌گیری (F_0) نیز نسبت به صفر نرمال شد. این نکته قابل ذکر است که قطعاً F_0 در واقعیت مساوی با صفر نیست. برای مقایسه شبیه‌سازی با داده‌های تجربی، نرمال‌سازی مشابهی برای سیگنال فلورسانس محاسبه شده انجام شد (رابطه ۵).

$$F_{st} = F / \max(F) \quad (5)$$

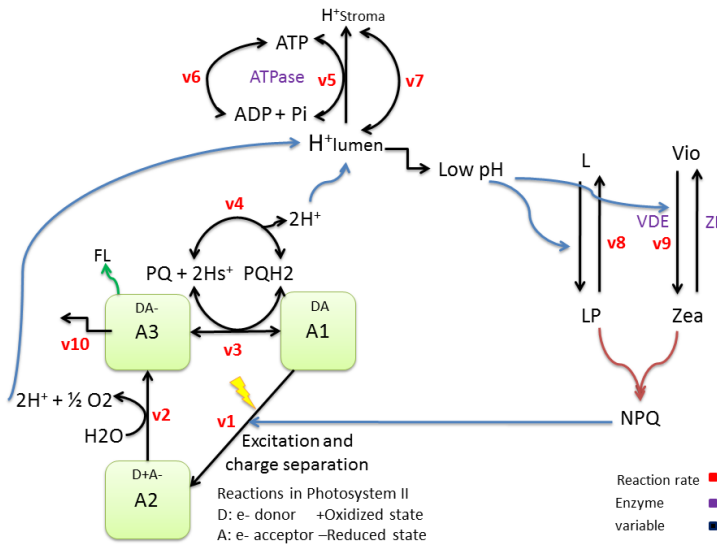
در نهایت این نکته قابل ذکر است که برای توسعه مدل و انجام شبیه‌سازی از نرم‌افزار MATLAB 2010b استفاده گردید.

آزمایش

در این مطالعه از گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) رقم کلمبیا استفاده شد. بذور آرابیدوپسیس در شرایط اطاقک‌رشد 23 ± 3 درجه سانتی‌گراد با 16 ساعت روشنائی ($1 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$) - 200 و رطوبت 70 درصد در شرایط بستر سبک (پیت، ماسه و پرلیت) (150)

نور در فاز اول (از یک دقیقه به ۳۰ دقیقه)، مقدار F_m در فاز تاریکی از حدود ۰/۸۵ به ۰/۶ کاهش می‌یابد (شکل ۲). این روند در نمودار حاصل از مدل ریاضی توسعه یافته نیز قابل پیش‌بینی است (شکل ۳). این تطابق میان نتیجه شبیه‌سازی مدل و آزمایش تجربی نشان‌دهنده صحیح بودن فرضیات موجود در مدل افزایشی می‌باشد.

می‌گردد، و یا به صورت گرما هدر می‌رود. نتایج مقایسه مدت‌زمان‌های مختلف تابش نوری نشان‌داد که اندازه حداکثر فلورسانس کلروفیل (F_m) در فاز تاریکی با مدت‌زمان تابش نور در فاز اول مرتبط است. همان‌طور که مشاهده می‌شود (شکل ۲)، بعد از مدت‌زمان‌های متفاوت تابش نور، ۱۵ دقیقه تاریکی همراه با پالس‌های اشباع نوری اعمال شده و تفاوت میزان فلورسانس در هر کدام از تیمارها قابل مشاهده است. بدین ترتیب که با افزایش مدت‌زمان تابش

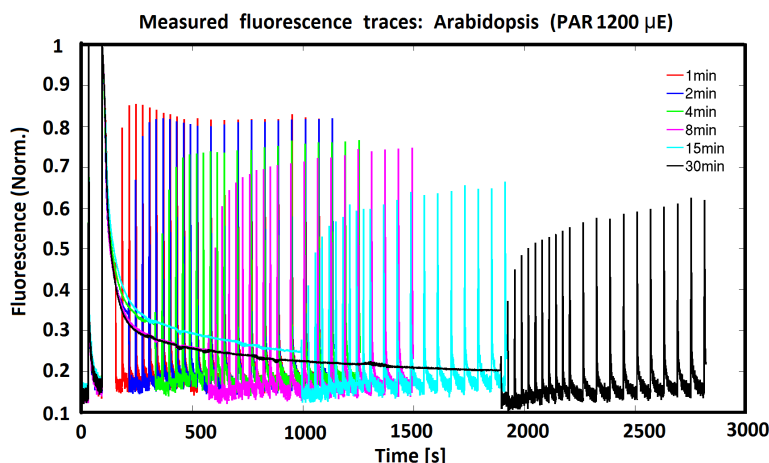


شکل ۱- تصویر شماتیک مدل. نور توسط کمپلکس برداشت‌نور (LHCs) جذب می‌شود. انرژی تهییج به مراکز واکنش باز (A1) منتقل، و به سمت وضعیت تفکیک بار (A2) هدایت می‌شود. این فرایند توسط کاهش‌دهنده غیر فوتوشیمیایی (NPQ) بازداشت می‌شود. کمپلکس تجزیه اکسیژن (OEC) موجب احیای مجدد مرکز واکنش می‌گردد و در نتیجه وضعیت A3 ایجاد و پروتون‌ها توسط تجزیه آب آزاد می‌شوند. طرف پذیرنده مجدداً توسط پلاستوکوئینون که پروتون‌ها را از استروما دریافت می‌کند، اکسید می‌گردد. پلاستوکوئینون توسط سیتوکروم b_6f ، که در مرز خارجی مدل در نظر گرفته شده است و در شکل نشان‌دهنده نشده است، مجدداً اکسید می‌گردد. این اکسیدشدن مجدد شامل آزادشدن پروتون به داخل لومن می‌باشد. غلظت بالای پروتون در لومن یا به عبارت دیگر کاهش میزان pH از یک طرف موجب تولید زآزانتین (تبدیل وایولا زانتین (Vio) به زآزانتین (Zea) در چرخه زانتوفیل) و از طرف دیگر موجب پروتونه شدن کمپلکس برداشت‌نوری (Lp) می‌گردد که این هر دو عامل القاشدن فرایند کاهش‌دهنده غیرفوتوشیمیایی (NPQ) می‌باشد. وجود اختلاف pH بین دو سمت غشای تیلاکوئیدی موجب تولید ATP از ADP و فسفات غیرآلی می‌گردد. ATP توسط فرایندهای دیگر در خارج از مدل مصرف می‌شود. وضعیت A3 می‌تواند تهییج شود اما از انرژی تهییج برای تفکیک بار استفاده کند. بخش کاهیده نشده این انرژی تهییج به صورت فلورسانس از سیستم خارج می‌شود (فلش سبز).

Figure 1- Schematic illustration of the model. Light absorbed by light harvesting complexes (LHCs). Excitation energy is transmitted to the reaction center (A1), and then to the state of charge separation (A2) driven. The process can be prevented by lowering non-photochemical (NPQ). Oxygen evolving complex (OEC) cause reduction of reaction center and thus make the A3 and protons are released by the decomposition of water. Acceptor side oxidizes by Plastokoinon. Plastokoinon oxidised by cytochrome b_6f , the outer boundary of the considered model is not shown in the figure. The oxidation of the re-release of protons into the lumen is included. High concentration of protons in the lumen or in other words, reducing the pH of the resulting Zeaxanthin production (conversion Violaxanthin (Vio) to Zeaxanthin (Zea) The xanthophyll cycle), and leads to protonation of light harvesting complex (Lp). Both factors induce the lowering process non-photochemical quenching (NPQ). PH differences between the two sides of the membrane leads to the production of ATP from ADP and inorganic phosphate. ATP is consumed by other processes outside of the model. A3 status can be exciting and use this energy to for the charge separation. The other energy sector has been used to fluorescence (green arrows).

جدول ۱ - پارامترهای فلورسانس کلروفیل
Table 1- Chlorophyll fluorescence parameters

پارامتر	توضیحات
F0	حداقل فلورسانس از برگ سازگار شده با تاریکی، زمانی که مراکز واکنش باز هستند.
F0□	حداقل فلورسانس از برگ سازگار شده با نور، زمانی که مراکز واکنش بسته هستند.
Fm	حداکثر فلورسانس از برگ سازگار شده با تاریکی، زمانی که مراکز واکنش باز هستند.
Fm□	حداکثر فلورسانس از برگ سازگار شده با نور، زمانی که مراکز واکنش باز هستند.
$NPQ = (Fm - Fm□) / Fm□$	کاهندگی غیرفتوشیمیایی (Non-photochemical quenching)
$qI = \frac{K_{PSII}^{Tot} - F_{PSII}^{Tot}}{K_{PSII}^{Tot}}$	کاهندگی بازدارندگی نوری
$qE = \alpha \times LHCIIp + \beta \times \frac{Z_{Ea}}{Z_{Ea} + k_z}$	کاهندگی وابسته به انرژی
$qELp = \alpha \times Lp$	کاهندگی مربوط به حضور کمپلکس برداشت نوری پروتونه شده
$qEZea = \beta \times \frac{Z_{Ea}}{Z_{Ea} + k_z}$	کاهندگی مربوط به حضور زآزانتین



شکل ۲- آزمایش تجربی تفاوت میزان فلورسانس بعد از مدت‌زمان‌های مختلف تابش نور. بعد از مدت‌زمان ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۵ و ۳۰ دقیقه تابش نور (با شدت $1200 \mu E m^{-2} s^{-1}$) میزان فلورسانس ساطع شده در تاریکی در لحظه تابش پالس قوی (در پنج دقیقه اول هر ۳۰ ثانیه یک پالس و در ۱۰ دقیقه بعدی هر ۶۰ ثانیه یک پالس)

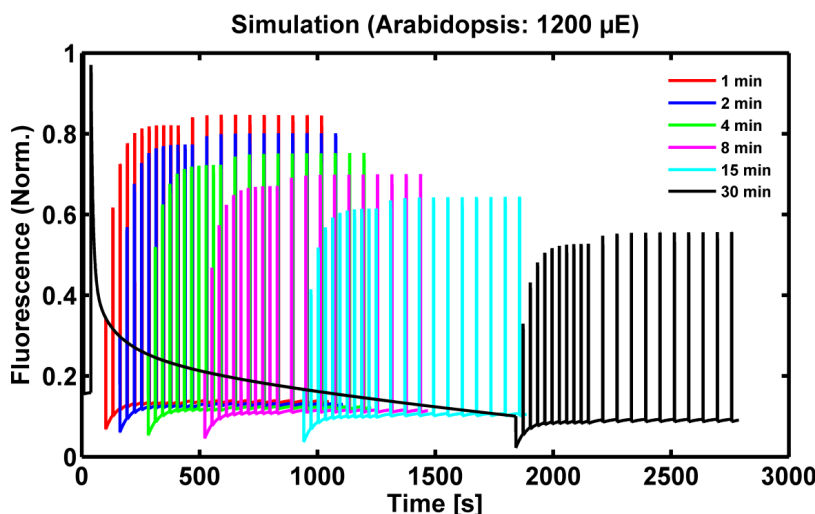
Figure 2- Experimental test of the difference in fluorescence after the time of exposure. After a period of 1, 2, 4, 8, 15 and 30 minutes of light (intensity $\mu E m^{-2} s^{-1} 1200$) the amount of fluorescence emitted radiation in the dark at the moment of strong pulses (one pulse every 30 seconds in the first five minutes of the 10 minutes later a pulse every 60 seconds)

با میزان qE کل برابر است، چراکه تنها تفاوت آن‌ها وجود qI در داخل فرایند NPQ می‌باشد. نکته قابل توجه دیگر، افت سریع میزان Lp و به دنبال آن افت سریع $qELp$ است (شکل ۴ الف، ج، و) که نشان‌دهنده واکنش سریع آن به روشنایی و تاریکی ایجاد شده در محیط می‌باشد.

اما در مقابل آن تولید و تجزیه زآزانتین و به دنبال آن القا و خاموشی $qEZea$ به آرامی انجام می‌گیرد (Johnson et al., 2008). در نتیجه احتمالاً با تابش دوباره نور، زآزانتین موجود در کلروپلاست که به کندی در حال تجزیه و تبدیل شدن به ویولازانتین است می‌تواند موجب افزایش سرعت القا فرایند کاهندگی کل در فازهای بعدی

شبیه‌سازی دوره‌های زمانی تاریکی و روشنایی

با افزایش میزان زآزانتین، کاهندگی مرتبط با آن ($qEZea$) نیز افزایش می‌یابد. از طرفی کاهندگی کل (NPQ) نیز که تا حد زیادی به حضور زآزانتین وابسته است و زمانی به حداکثر مقدار خود می‌رسند که میزان زآزانتین بالا باشد (Horton et al., 1996). مدل‌سازی نیز نتایج مشابهی نشان داد و پیش‌بینی مناسبی از اجزاء مختلف فرایند کاهندگی غیرفتوشیمیایی (qE ، qI و NPQ کل) و هم‌چنین اجزاء فرایند qE در شدت‌های نوری مختلف، ارائه داد (شکل ۴). در شکل ۴ همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان qI (خط آبی) به‌خصوص در شدت نورهای کم بسیار ناچیز است و بنابراین مقدار NPQ کل، تقریباً



شکل ۳- شبیه‌سازی تفاوت میزان فلورسانس بعد از مدت‌زمان‌های مختلف تابش نور. بعد از مدت‌زمان ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۵ و ۳۰ دقیقه تابش نور (با شدت $1200 \mu E m^{-2} s^{-1}$) میزان فلورسانس ساطع شده در تاریکی در لحظه تابش پالس قوی (در پنج دقیقه اول هر ۳۰ ثانیه یک پالس و در ۱۰ دقیقه بعدی هر ۶۰ ثانیه یک پالس)

Figure 3- Simulation of the difference in fluorescence after the time of exposure. After a period of 1, 2, 4, 8, 15 and 30 minutes of light (intensity $\mu E m^{-2} s^{-1} 1200$) the amount of fluorescence emitted radiation in the dark at the moment of strong pulses (one pulse every 30 seconds in the first five minutes of the 10 minutes later a pulse every 60 seconds).

عوامل کاهندگی (عامل زآزانتین به‌طور دقیق‌تر و هم‌چنین عامل کمپلکس برداشت‌نوری پروتونه‌شده)، فرایند القا و خاموشی NPQ را به‌طور دقیق‌تری نسبت به مدل Ebenhoeh *et al.*, 2011 پیش‌بینی می‌نماید.

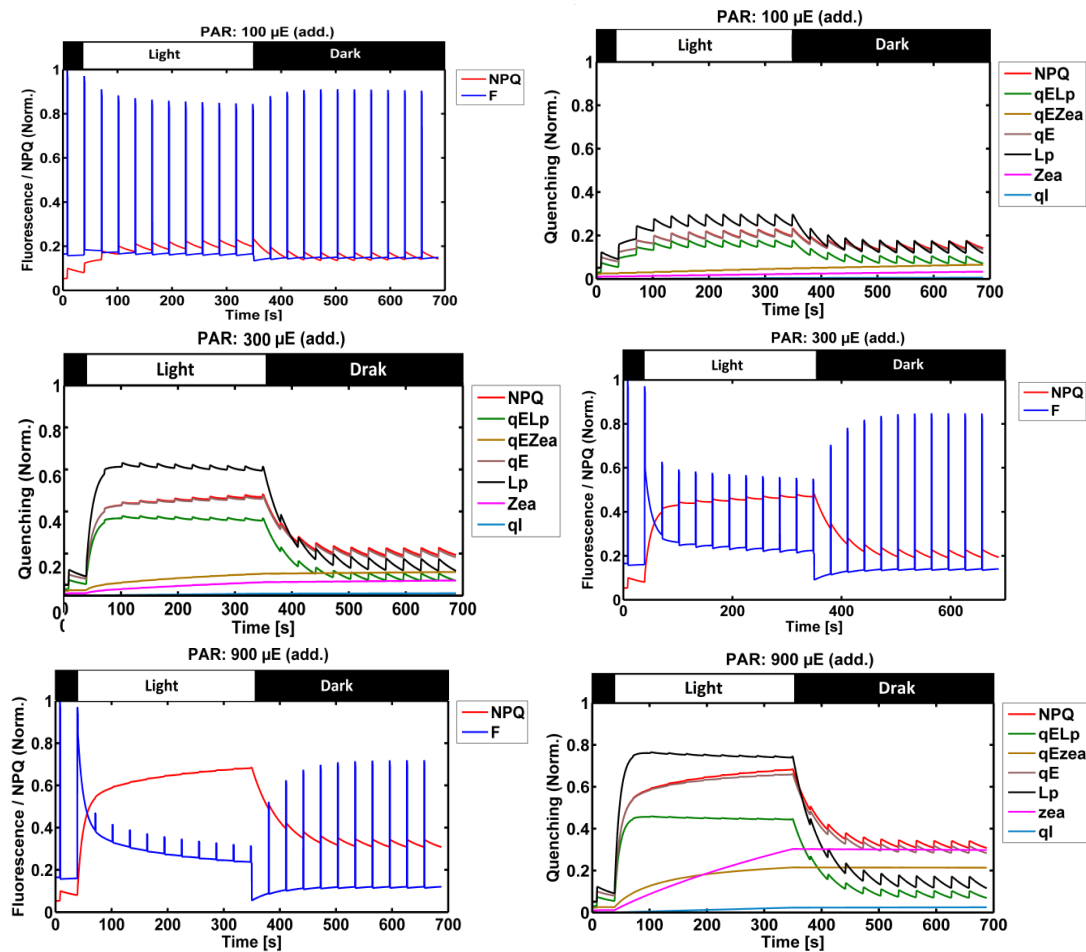
شبیه‌سازی تغییرات سطوح pH و ATP در شرایط نوری مختلف

در شرایط نور ثابت، سرعت فتوسنتز به وضعیت ثابتی می‌رسد که توسط ورود جریان متوازی از پروتون به لومن و خروج از طریق ATP سنتاز و نشت پروتون تعیین می‌گردد. در شرایط حالت پایدار، معادلات مدل را می‌توان به‌صورت یک معادله ساده نمود که تنها به یک متغیر وابسته است (غلظت پروتون آزاد در لومن، H)، که می‌تواند به‌صورت عددی حل شود. در این مدل، pH به تجمع پروتون ناشی از فعالیت مراکز واکنش فتوسیستم II، سنتز ATP، مصرف خارجی ATP و فعالیت‌های کاهندگی باثبات بستگی دارد. بر اساس وابستگی داپوکسیداسیون و ایولازانتین و فعالیت ثابت اپوکسیداز به pH و فعالیت مستمر اپوکسیداز (Gilmore *et al.*, 1994)، القای فرایند کاهندگی توسط pH لومن انجام می‌گیرد. این امر منجر به این خواهد شد که در انتقال از تاریکی به روشنائی، با آغاز تابش نوری و کاهش شدید pH، تولید زآزانتین از وایولازانتین و هم‌چنین پروتونه‌شدن کمپلکس

نتایج آزمایشات فلورومتري و فرایند شبیه‌سازی برای سه‌شدت نوری ($100, 300, 900 \mu E m^{-2} s^{-1}$) نشان داد که مدل قادر به بازتولید نسبتاً خوبی از داده‌های تجربی، حداقل از لحاظ کیفی، بوده است (شکل ۵). برای شدت نور متوسط و بالا، فرایند سازگاری نور شبیه‌سازی شده، مشاهدات تجربی را با دقت بالا پیش‌بینی نموده است. اما در شدت نور کم ($100 \mu E m^{-2} s^{-1}$) در چندثانیه ابتدای فاز روشنائی، یک افزایش موقتی در میزان NPQ مشاهده شد و بعد از حدود ۶۰ ثانیه در یک سطح پایین‌تر به حالت ثابت و پایدار قرار گرفت. Kalituho *et al.*, 2007 و Finazzi *et al.*, 2004 نیز موارد مشابهی را در جو (*Hordeum vulgare*) و آرابیدوپسیس گزارش و این‌طور استنباط نموده‌اند که در شدت نور کم و در اولین دقایق تابش نور، میزان ΔpH به‌شدت افزایش می‌یابد و بنابراین فرایند کاهندگی سریعاً القا و یک افزایش ناگهانی را تجربه می‌کند، اما پس از آن با شروع به کار چرخه کالوین، پروتون‌های موجود مصرف و ΔpH و در نتیجه فرایند کاهندگی کاهش می‌یابد. مدل حاصل قادر به پیش‌بینی و بازتولید این افزایش موقتی که گاهی در شدت نوری $300 \mu E m^{-2} s^{-1}$ هم مشاهده می‌شود، نمی‌باشد. باتوجه به اینکه مدل حاضر مصرف پروتون توسط چرخه کالوین را شامل نمی‌شود، علت عدم پیش‌بینی افزایش موقتی NPQ در نتایج مدل قابل‌انتظار است. مدل توسعه‌یافته فرایند سازگاری فتوسنتز به‌تغییر شرایط نوری به‌علت معرفی دقیق‌تر

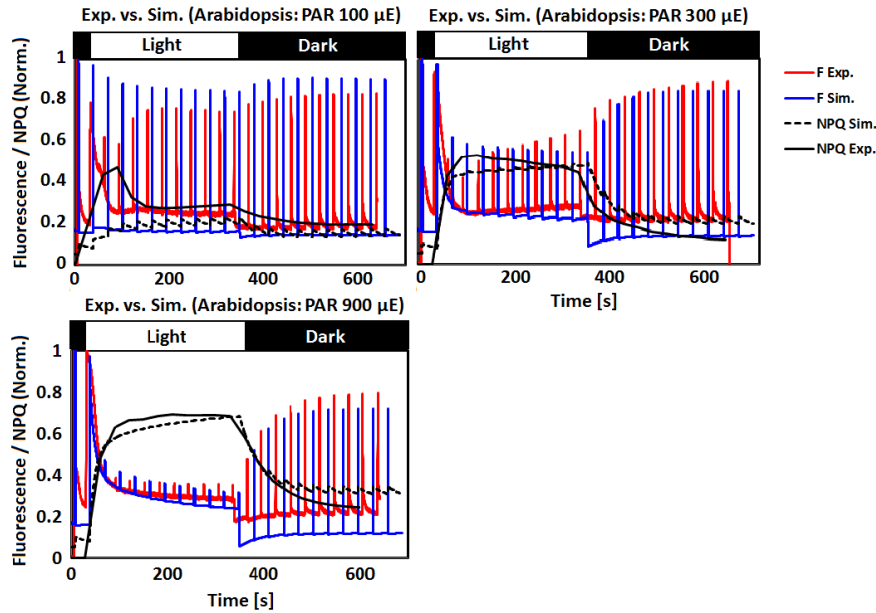
پیش‌بینی مدل در برخورد هر پالس نوری اشباع به گیاه میزان pH نیز کاهش می‌یابد (شکل ۴).

برداشت نوری فتوسیستم II القاشده و بدین ترتیب فرایند NPQ آغاز می‌گردد. با افزایش شدت نور میزان pH کاهش می‌یابد و طبق

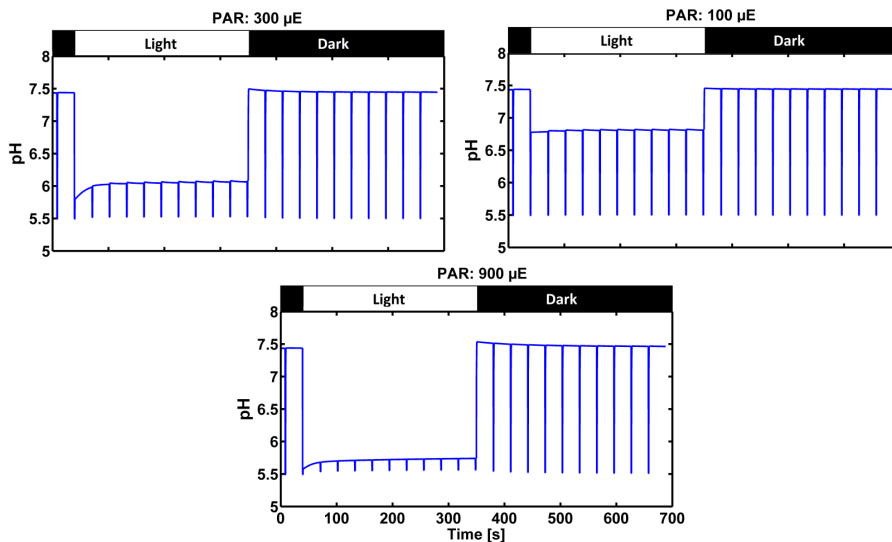


شکل ۴ - نمودار شبیه‌سازی شده از فلورسانس کلروفیل و فرایند کاهندگی (NPQ) و اجزای آن در شدت‌های نوری مختلف با استفاده از مدل افزایشی (additive). در شکل‌های سمت راست نمودار NPQ با خط قرمز و فلورسانس کلروفیل با خط آبی نشان داده شده است. در نمودارهای سمت چپ نیز NPQ کل با رنگ قرمز، کاهندگی وابسته به انرژی (qE) با رنگ خاکستری، کاهندگی بازدارنده نوری (qI) با رنگ آبی، کاهندگی مرتبط با کمپلکس برداشت نوری پروتونه (qELp) با رنگ سبز و کاهندگی مرتبط با زازانتین (qEZea) با رنگ خردلی نمایش داده شده است. هم‌چنین میزان تغییرات کمپلکس برداشت نوری (Lp) با رنگ سیاه و زازانتین (Zea) با رنگ صورتی نشان داده شده است.

Figure 4- t simulated of chlorophyll fluorescence and non-photochemical quenching (NPQ) and its components at different light intensities by using an additive model. NPQ chart with a red line on the right and chlorophyll fluorescence is shown by the blue line. In the diagram to the left of the NPQ in red, energy-dependent lowering (qE) with gray, lowering the optical inhibitor (qI) blue light-harvesting complexes associated with lowering protonated (qELp) with green and lowering associated with Zeaxanthin (qEZea) with Mustard color is displayed. The rate of change of the light harvesting complex (Lp) with black and zeaxanthin (Zea) is shown in pink.



شکل ۵ - مقایسه نمودار شبیه‌سازی فلورسانس (F) و کاهندگی (NPQ) با آزمایشات تجربی مشابه در آرابیدوپسیس در سه شدت نوری ۱۰۰، ۳۰۰ و ۹۰۰ $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. در این شکل، نمودار فلورسانس آزمایش تجربی (F Exp. رنگ قرمز)، فلورسانس شبیه‌سازی شده (F Sim. رنگ آبی)، کاهندگی آزمایش تجربی (NPQ Exp. خط سیاه رنگ)، کاهندگی شبیه‌سازی شده (NPQ Sim. خط چین سیاه رنگ) می‌باشد
Figure 5- Comparison Chart 0 simulate fluorescence (F) and non-photochemical quenching (NPQ) with similar experiments in Arabidopsis in light intensity of 100, 300 and 900 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ In this figure, the graph of fluorescence experiment (F Exp. red), simulated fluorescence (F Sim. blue), NPQ experiment (NPQ Exp. black line), NPQ simulated (NPQ Sim. black dashed line) is



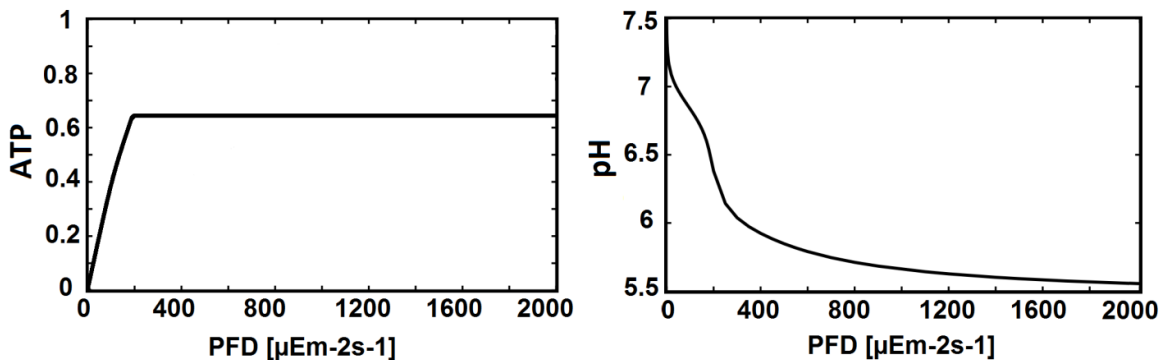
شکل ۶ - پیش‌بینی مدل از تغییرات pH در سه شدت نوری ۱۰۰، ۳۰۰ و ۹۰۰ $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ گذار از فاز تاریکی به روشنایی و بالعکس
Figure 6- prediction model of pH changes in light intensity of 100, 300 and 900 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ transition from darkness phase to light and vice versa

این روند کاهشی با شیب ملایم‌تری اتفاق می‌افتد که نسبت به پیش‌بینی مدل Ebenhoh *et al.*, 2011 و بر طبق آزمایشات

همچنین نتایج نشان‌داد که افت pH در انتقال از تاریکی به روشنایی و با بالا رفتن شدت نور افزایش می‌یابد. برای شدت نور کم

کاهندگی سریع‌تر انجام می‌گیرد. این امر منجر به کاهش بازخورد تجمع پروتون شده و جریان پروتون طی چندثانیه متعادل می‌گردد (Ebenhoh *et al.*, 2011). بنابراین در شدت‌های نوری بالا میزان ATP ثابت و پایدار می‌ماند که در مدل جدید بیش‌تر با واقعیت منطبق است (شکل ۷ سمت چپ).

Ruban *et al.*, 2001، واقع‌گرایانه‌تر است (شکل ۷ سمت راست). در شرایط نور کم، تجمع پروتون به راحتی می‌تواند توسط فعالیت ATP سنتتاز متعادل شود. با این حال، قرار گرفتن در معرض شدت نور بالای ناگهانی منجر به وضعیتی می‌شود که در آن تجمع پروتون می‌تواند از طریق مصرف توسط ATP سنتتاز متعادل شود و القاء فرایند



شکل ۷ - نمودار شبیه‌سازی تغییرات pH و ATP نسبت به تغییر شدت نور
Figure 7- graphs simulating the pH and ATP to changes in light intensity

کاهندگی قابل قبول می‌باشد. این امر نشان‌دهنده آن است که مفروضات ما برای عوامل دخیل در فرایند کاهندگی درست می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، مدل توسعه‌یافته در این مطالعه قادر است توصیف نظری دقیق‌تری از فرایند سازگاری فتوسیستم II به تغییر شرایط نوری ارائه‌دهد که می‌توان با آن خواص دینامیکی واکنش‌های نوری فتوستنتز و سازگاری دستگاه فتوستنتز به نور اضافی را مورد مطالعه قرار داد. این مدل شامل اجزاء بیش‌تری از فرایند کاهندگی یعنی qE که خود شامل qELp و qEZea است و هم‌چنین qI می‌باشد و قادر است تمام این فرایندها را به خوبی پیش‌بینی کند. در نتیجه می‌تواند به عنوان پایه نظری به همراه روش تجربی به بررسی اساس مولکولی NPQ کمک کند.

در مطالعه حاضر، مدل بسیار ساده‌ای که در مطالعه Ebenhoh *et al.*, 2011 ارائه شده بود، به منظور دست‌یافتن به اهدافی چون (الف) بررسی فرضیه دخالت مستقیم زآزانتین و کمپلکس جمع‌کننده نور به همراه یک دیگر، (ب) تجزیه و تحلیل دینامیک NPQ و فلورسانس ناشی از فتوسیستم II در تغییر شرایط نوری (شدت و مدت تابش)، (ج) شبیه‌سازی تغییرات pH و ATP که بیش‌تر با واقعیت تطبیق داشته باشند و (د) بررسی میزان انطباق داده‌های شبیه‌سازی شده با داده‌های تجربی به دست آمده از اندازه‌گیری فلورسانس با دستگاه فلورومتر، توسعه داده شد. ساختار ساده مدل و نتایج حاصل از آن، معادلات و روابط ریاضی در نظر گرفته شده بین پارامترها و متغیرهای به کار گرفته شده را تأیید نمود و به طور کلی رفتار مدل تا حدود زیادی به واقعیت نزدیک است. آنچه که در حالت پایدار شبیه‌سازی شد در دامنه واقعی قرار دارد و ویژگی‌های اصلی روند دینامیک فرایند

پیوست

متغیرهای وضعیت به جز ویولازانتین و کمپلکس جمع‌آوری نور

- A1 = x(1); مراکز واکنش باز در فتوسیستم ۲ (DA+)
- A2 = x(2); وضعیت بار تفکیک شده در فتوسیستم ۲ (D+A-)
- PQH2 = x(3); پلاستوکوئینون احیاء شده $PQ = PQ_{Tot} - PQH2$
- H_{lumen} = x(4); غلظت پروتون در لومن [mmol/mol Chl]
- ATP = x(5); آدنوزین تری فسفات $ADP = APT - ATP$
- LHCII = x(6); تراپمر LHCII

$V_{io} = x(7)$; ویولازانتین

$PSII_{Tot} = x(8)$; غلظت فتوسیستم ۲

خزانه‌ها

$A_3 = A_{Tot} - A_1 - A_2$; مراکز واکنش بسته در فتوسیستم ۲ (D-A-)

$PQ = PQ_{Tot} - PQH_2$; پلاستوکوئینون اکسیدشده

$ADP = ATP_{Tot} - ATP$; آدنوزین دی فسفات

$P_i = P_{Tot} - ATP$; فسفر غیرآلی

$Lp = (LHCII_{Tot} - LHCID)$; کمپلکس برداشت نوری پروتونه شده.

$Zea = X_{an_{Tot}} - V_{io}$; غلظت زآزانتین

معادلات دیفرانسیل

$$dxdt(1) = -v_1 + v_3;$$

$$dxdt(2) = +v_1 - v_2;$$

$$dxdt(3) = +v_3 - v_4;$$

$$dxdt(4) = (+v_2 + v_4) - \left(\frac{14}{3} \times v_5 + v_7\right);$$

$$dxdt(5) = +v_5 - v_6;$$

$$dxdt(6) = -v_8;$$

$$dxdt(7) = -v_9;$$

$$dxdt(8) = -v_{10};$$

سرعت‌های واکنش

II فتوسیستم

$$v_1 = k_1 \times A_1;$$

$$k_1 = k_{ER} \times k_{la} \times (1 - qE)$$

$cPFD$: ضریب تبدیل برای تهییج; $cPFD \times PFD(\text{time})$

ER: (Excitation Rate) نرخ تهییج

$$v_2 = k_2 \times A_2;$$

$$v_3 = (k_3 \times PQ \times A_3) - (k_{3m} \times PQH_2 \times A_1)$$

چرخه پلاستوکوئینون

$$v_4 = (k_4 \times PQH_2) - (k_{4m} \times PQ \times Hf^2)$$

سنتز ATP

دمای استاندارد ۲۵ درجه; $[kJ/K \times mol]$ ثابت گاز; $T=298$; $R=8.3 \times 10^{-3}$

$$k_{eq} = e^{\left(-\frac{\Delta G^0}{RT} - \log(10) \times \Delta pH \times \left(\frac{14}{8}\right)\right)}$$

$$v_5 = k_5 \times \frac{\left(\frac{ADP}{K_{ADP}} \times \frac{P_i}{K_{P_i}} - \frac{ATP}{K_{ATP} \times k_{eq}}\right)}{\left(1 + \frac{ADP}{K_{ADP}} + \frac{P_i}{K_{P_i}} + \frac{ATP}{K_{ATP}} + \frac{ADP}{K_{ADP}} \times \frac{P_i}{K_{P_i}}\right)}$$

$$k_{eq} = [P_i] \times e^{-\left(\frac{\Delta G^0}{RT}\right)} \times \left(\frac{[H^+]_{stroma}}{H}\right)^{(14/3)}$$

$$v_5 = k_5 \times \left(ATP_{Tot} - ATP \times \left(1 + \frac{1}{k_{eq}} \right) \right)$$

مصرف ATP

$$v_6 = k_6 \times ATP;$$

تراوش و نشت پروتون

$$v_7 = k_7 \times \left(10^{(-pH_{lumen})} - 10^{(-pH_{stroma})} \right) \times 4 \times 10^3;$$

پروتونه شدن کمپلکس جمع کننده نور

$$v_8 = (k_8 \times H_f \times \text{LHCII}) - (k_{8m} \times \text{LHCIIp});$$

دایوکسیداسیون وایولازانتین به زآزانتین

$$v_9 = v_{9d} - v_{9r}$$

$$v_{9d} = k_{9d} \times v_{10}$$

$$k_{9d} = k_{9d} \times \left(\frac{H_f h_{\psi}}{(H_f h_{\psi} + k_{h_{\psi}} h_{\psi})} \right)$$

$$v_{9r} = k_{9r} \times \text{Zea};$$

$$v_{10} = (k_{10} \times \text{cPDF} \times \text{PDF}(\text{time}) \times \text{PSII}_{\text{Tot}}) - (k_{10m} \times (\text{PSII}_{\text{Tot}} - \text{PSII}_{\text{Tot}}))$$

References

- 1- Barber, J., and Andersson, B. 1992. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. Trends in Biochemical Sciences, 17(2), 61–66. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16083413>.
- 2- Belyaeva, N. E., Schmitt, F., Steffen, R. V. Paschenko, Z., Riznichenko, G. Yu., Chemeris, Yu. K., Renger, G., Rubin, A. B., et al. 2008. PS II model-based simulations of single turnover flash- induced transients of fluorescence yield monitored within the time domain of 100 ns–10 s on dark-adapted *Chlorella pyrenoidosa* cells. Photosynth Research 98:105–119.
- 3- Cruz, J. A., Sacksteder, C. A., Kanazawa, A., and Kramer, D. M. 2001. Contribution of electric field (Delta psi) to steady-state transthylakoid proton motive force (pmf) in vitro and in vivo control of pmf parsing into Delta psi and Delta pH by ionic strength. Biochemistry 40:1226–1237.
- 4- Demmig-Adams, B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. Biochimistry Biophysics Acta 1020: 1–24
- 5- Dietzel, L., Brautigam, K., Pfannschmidt, Th. 2008. Photosynthetic acclimation: State transitions and adjustment of photosystem stoichiometry – functional relationships between short-term and long-term light quality acclimation in plants. FEBS Journal 275: 1080–1088.
- 6- Ebenhoh, O., Houwaart, T., Lokstein, H., Schlede, S. and Tirok, K. 2011. A minimal mathematical model of nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Biosystems 103(2): 196-204.
- 7- Finazzi, G., Johnson, G. N., Dalosto, L., Joliot, P., Osto, L. D., and Bassi, R. 2004. A zeaxanthin-independent nonphotochemical quenching mechanism localized in the photosystem II core complex. proceedings of the national academy of sciences of america 17:101(33): 12375-80.
- 8- Gilmore, A.M., Mohanty, N., Yamamoto, H.Y., 1994. Epoxidation of zeaxanthin and antheraxanthin reverses non-photochemical quenching of photosystem II chlorophyll a fluorescence in the presence of trans-thylakoid delta pH. FEBS Letters 350: 271–274.
- 9- Horton, P., Ruban, A. V., and Walters, R. G. 1996. Regulation of Light Harvesting in Green Plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47: 655–684.
- 10- Jahns, P., and Holzwarth, A. R. 2012. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. Biochimica et Biophysica Acta 1817(1): 182–93.
- 11- Johnson, M.P., Davison, P.A., Ruban, A.V., and Horton, P. 2008. The xanthophyll cycle pool size controls the kinetics of non-photochemical quenching in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Letter 582: 262–266.
- 12- Kalituho, L., Beran, K. C., and Jahns, P. 2007. The Transiently Generated Nonphotochemical Quenching of Excitation Energy in *Arabidopsis* Leaves Is Modulated by Zeaxanthin. Plant Physiology 143(4): 1861–1870.
- 13- Kuvykin, I.V., Vershubskii, A.V., Priklonskii, V.I., Tikhonov, A.N. 2009. Computer simulation study of pH-dependent regulation of electron transport in chloroplasts. Biophysics 54:455–464.
- 14- Laisk, A., Eichelmann H., Oja V. 2006. C3 photosynthesis in silico. Photosynthesis Research, 90: 45–66.
- 15- Muller, P., Li X., and Niyogi, K. K. 2001. Non-Photochemical Quenching . A Response to Excess Light Energy Plant Physiology 125(4): 1558-1566.
- 16- Murchie, E. H., Pinto, M., and Horton, P. 2009. Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. New Phytologist 181: 532–552.
- 17- Niyogi, K.K. 1999. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. Annual Revolution of Plant Physiology Plant Molecular Biology 50: 333–359.
- 18- Niyogi, K. K. 2000. Safety valves for photosynthesis. Current Opinion in Plant Biology, 3:455–460.
- 19- Pfau, T., Christian, N., and Ebenhoh, O. 2011. Systems approaches to modelling pathways and networks. Briefings in Functional Genomics 10(5): 266–79.
- 20- Pfündel, E.E., Dilley, R.A. 1993. The pH dependence of violaxanthin deepoxidation in isolated pea chloroplasts.

- Plant Physiology 101: 65–71.
- 21- Rapoport, T.A., Heinrich, R., Rapoport, S.M. 1976. The regulatory principles of glycolysis in erythrocytes in vivo and in vitro. *Biochemistry Journal* 154(2):449–69.
 - 22- Ruban, A.V., Wentworth, M., Horton, P. 2001. Kinetic analysis of nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence. 1. Isolated chloroplasts. *Biochemistry* 40: 9896–9901.
 - 23- Ruban, A. V., Berera, R., Iliaia, C., van Stokkum, I. H. M., Kennis, J. T. M., Pascal, A. A, van Grondelle, R. 2007. Identification of a mechanism of photoprotective energy dissipation in higher plants. *Nature* 450(7169): 575–8.
 - 24- Pfau, T., Christian, N. and Ebenhoeh, O. 2011. Systems approaches to modeling pathways and networks. *Briefings In Functional Genomics* 10 (5): 266-279.
 - 25- Jahns, P., Holzwarth, A.R. 2012. The role of the xanthophylls cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 1817: 182–193.
 - 26- vanKooten, O., Snel, J., Vredenberg, W.J. 1986 Photosynthetic free energy transduction related to the electric potential changes across the thylakoid membrane. *Photosynthesis Research* 9:211–227.
 - 27- Zhu, X.G, et al. 2005. 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* 223:114–133.
 - 28- Zhu, X.G., Govindjee Baker, N.R., deSturler, E., Ort, D.O., Long, S.P. 2005. 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* 223: 114–133.
 - 29- Zhu, X. G. 2008. Systems biology of photosynthesis, www.photobiology.info
 - 30- Zaks, J., Amarnath, K., Kramer, D. M., Niyogi, K. K., and Fleming, G. R. 2012. A kinetic model of rapidly reversible nonphotochemical quenching. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(39): 15757-15762



Mathematical Modeling of Acclimation Processes of the Photosynthetic Chain

S. Heidari¹- H. Marashi^{2*} - S. Malekzadeh Shafaroudi³ - M. Ghaderi-Zefrehei⁴

Received: 23-09-2014

Accepted: 08-03-2015

Introduction

Photosynthetic energy conversion efficiency is characteristic of a system which is determined by interactions between various components of the system. The complex process of photosynthesis has been studied as a whole system which enables in silico examination of a large number of candidate genes for genetic engineering for a higher photosynthetic energy conversion efficiency. One of the most important environmental factors which influence the photosynthesis efficiency is light regime which can cause producing ROS components. To acclimate to such fluctuations, plants have evolved adaptive mechanisms to minimize damage of the photosynthetic apparatus excess light. A fast compatibility response to high light stresses is non-photochemical quenching process (NPQ), dissipating excessive energy to heat. Light harvested state switches into a quenched state by a conformational change of light harvesting complex (LHCII) that regulated by xanthophylls and the PsbS protein within seconds. Low lumen pH activates xanthophyll synthesis via a xanthophyll cycle which consists of the de-epoxidation of violaxanthin to zeaxanthin by violaxanthin de-epoxidase in high light and inversely by zeaxanthin epoxidase in low light which occurs more slowly.

Materials and Methods

Thale cress (*Arabidopsis thaliana*) (Chlombia-0) were grown on soil at 25/22 °C day/night temperature, with a 16/8 h photoperiod, and 40-70% (depend of plant species) relative humidity. The light intensity was 150–200 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ white light. Intensity of chlorophyll fluorescence was measured with PAM-2000 fluorometer (Heinz Walz, Germany) and the manufacturer's software (PamWin v.2).

Results and Discussion

In the present study, a dynamic kinetics amplified mathematical model was developed based on differential equations in order to predict short-term changes in NPQ in the process of adaptation to different light conditions. We investigated the stationary and dynamic behavior of the model and systematically analyze the dependence of system key characteristic such as rate constant and pool size. For medium and high light intensity, experimental evidence has been predicted with high accuracy by simulation. In low light intensity ($100\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$) in a few seconds the light phase, a temporary increase in the rate of NPQ was observed after about 60 seconds it reaches to a steady state level. Model simulation of the induction of NPQ relaxation is more accurate than previous predictions, due to the introduction of more stringent quenching agents (xanthophylls cycle and also the light-harvesting complex protonations). The results showed that the pH drop in the transition from darkness to light and high light intensity increases. For low light intensity quenching process occurs with a more gentle slope to the prediction model based on previous experiments is more realistic. In low light conditions, the proton concentration can easily be balanced by ATP synthase activity. This leads to a reduction in current proton-proton feedback gathered during few seconds is balanced. Thus, at high light intensities ATP levels remained stable in the new model is more consistent with reality.

1- PhD, Biotechnology and Plant Breeding Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad

2- Hassan Marashi, Professor and Biotechnology and Plant Breeding Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad

3- Saeid Malekzadeh Shafaroudi, Associate Professor, Biotechnology and Plant Breeding Department, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad

4- Mostafa Ghaderi-Zefrehei, Assistant Professor, Animal Science Department, Agriculture Faculty, Yasouj University

(* - Corresponding Author Email; h.marashi@um.ac.ir)

Conclusions

A simple mathematical model which has been developed in this paper provides a more detailed description of this process and be able to predict the various components and parameters associated with it. Comparison of simulation results with experimental data revealed that protonated light harvesting complex and Zeaxanthin simultaneously induce NPQ quenching processes. The results can be seen as theoretical basis for developing more accurate models to study molecular mechanisms of acclimation processes of the photosynthetic chain.

Keywords: Modeling, Non-photochemical Quenching, Photosynthesis