



UFZ-Bericht

UFZ-UMWELTFORSCHUNGSZENTRUM LEIPZIG-HALLE GMBH

Nr. 4/2001

Dissertation

**Kinetik der Chlorophyll-a-Fluoreszenz-
intensität eukariotischer Algen**

Götz Günther

ISSN 0948-9452

Kinetik der Chlorophyll-*a*-Fluoreszenzintensität eukaryotischer Algen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Herrn Götz Günther
geb. am: 31.8.1964 in: Magdeburg

Gutachter:

Prof. Dr. Dr. G. Berg . . . Fachbereich Physik, Uni Halle
Prof. Dr. J. Friedrich . . . Lehrstuhl für Physik, TU München/Freising
Prof. Dr. Dr. H. K. Lichtenthaler . . . Botanisches Institut, Uni Karlsruhe

Halle (Saale), im März 2000

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Lichtumsetzung in eukaryotischen Algen	3
2.1 Die Photosynthese	3
2.2 Lichtabsorption der Algenzellen	6
2.2.1 Absorptionsbestimmende Zelleigenschaften	6
2.2.2 Absorptionsänderungen des Zellmaterials	8
2.3 Die photosynthetische Lichtreaktion	9
2.3.1 Funktionseinheiten der Lichtreaktion	9
2.3.2 Ladungstrennung	10
2.3.3 Elektronentransport	14
2.4 Fluoreszenzemission	18
2.4.1 Spektralverhalten der Fluoreszenzemission	18
2.4.2 Kinetik der Fluoreszenzintensität	19
3. Experimentelle Befunde	23
3.1 Algenkulturen	23
3.2 Chlorophyll- <i>a</i> -Konzentration	24
3.3 Spektral auflösende Untersuchungen	25
3.4 Kinetische Messungen der Fluoreszenzintensität	28
3.5 Felduntersuchungen	33
4. Modell zur Kinetik der Fluoreszenzintensität	37
4.1 Vereinfachende Modellannahmen	37
4.2 Modellformulierung	38
4.3 Modellinterpretation	40
4.4 Vergleich mit Modellen aus der Literatur	44
5. Auswertung und Diskussion des Modells	46
5.1 Lösung des Differentialgleichungssystems	46
5.2 Parameterauswahl	51
5.3 Anwendung auf experimentelle Befunde	54
5.3.1 Berechnungen von Kinetiken	54
5.3.2 Folgerung am Beispiel	57
6. Zusammenfassung	61
7. Literatur	62
8. Anhang	68

Abkürzungsverzeichnis
zur Photosyntheseforschung

A ₀	Chlorophyll- <i>a</i> -Monomer im Reaktionszentrum I
A ₁	Phyllochinon im Reaktionszentrum I
ADP	Adenosin-Di-Phosphat
ATP	Adenosin-Tri-Phosphat
CF	ATP-Synthetase
Chl <i>a</i>	Chlorophyll <i>a</i>
Cyt b/f	Cytochrom <i>b₆f</i> Komplex
DCMU	3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-Dimethylharnstoff
Fd	Ferredoxin
FNR	Ferredoxin-NADP-Reduktase
F _x	Eisen-Schwefel-Zentren
LHC I, LHC II	Antennenpigmentsystem I bzw. II
NADP	oxidiertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NADPH ₂	reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
OEC	Sauerstoff entwickelnder Komplex
P ₆₈₀	Chlorophyll- <i>a</i> -Dimer im Reaktionszentrum II
P ₇₀₀	Chlorophyll- <i>a</i> -Dimer im Reaktionszentrum I
PAR	Photosynthetisch aktive Strahlung
PC	Plastocyanin
Pheo	Phaeophytin im Reaktionszentrum II
P _i	anorganisches Phosphat
PQ	Plastochinon
PQH ₂	reduziertes Plastochinon
PS I, PS II	Photosystem I bzw. II
PSU	Photosynthetische Einheit
Q _A , Q _B	spezielle Plastochinone im Reaktionszentrum II
RC I, RC II	Reaktionszentrum I bzw. II
Rfd	Verhältnis der Fluoreszenzverminderung für den Kautsky-Effekt
Y _Z	Tyrosin

Die Trichter.

Zwei Trichter wandeln durch die Nacht.
Durch ihres Rumpfs verengten Schacht
fließt weißes Mondlicht
still und heiter
auf ihren
Waldweg
u. s.
w.

[C. Morgenstern, um 1920]

Gewidmet ist die Arbeit meinem Vater Kurt Günther (1928-1997),
der mich aus vielerlei Sicht immer ermutigte.

1. Einleitung

Die Energie zur Existenz und Fortpflanzung von Lebewesen wird durch die photosynthetische Nutzung des Sonnenlichts bereitgestellt. Aus den anorganischen Verbindungen Wasser und Kohlendioxid werden durch photoautotrophe Organismen Kohlenhydrate aufgebaut, von denen sich heterotrophe Organismen ernähren. Außerdem wird bei der Photosynthese der zur Atmung benötigte molekulare Sauerstoff freigesetzt.

In Gewässersystemen nehmen die photosynthetisch aktiven Organismen, zu denen die eukaryotischen Algen zählen, die energiebereitstellende Schlüsselposition ein. Abgeschätzt beträgt die Nettoprimärproduktion organischen Kohlenstoffs auf der Erde $1,6 \cdot 10^{17}$ g pro Jahr, wovon 66% auf der terrestrischen Erdoberfläche und 33% in den Ozeanen gebildet werden [nach Müller und Müller, 1994]. Weniger als 1% entsteht in Seen und Flüssen. Gleichwohl unterliegt gerade die ökologische Beschaffenheit der Binnengewässer aufgrund einer ausgesprochen intensiven Nutzung durch den Menschen einer besonderen Aufmerksamkeit.

Ausgelöst wird die photosynthetische Lichtreaktion, welche gemeinhin einen zentralen Teilprozess des Zellstoffwechsels kennzeichnet, durch aufgenommene Photonen. Das Lichtangebot stellt demzufolge in Menge und Zusammensetzung eine abiotisch limitierende Eingangsgröße der Photosynthese dar. In Gewässern wird dieses Angebot insbesondere durch trübende Schwebstoffe, zu denen zum Teil die Algen auch selbst zählen, vermindert. Folglich kann unter optimalen Entwicklungsbedingungen eine überaus starke Vermehrung der Algen einsetzen, die dann zur Selbstabschattung führt. Dadurch wird einerseits die Photosynthese gehemmt, andererseits gewissermaßen selbsterhaltend das Wachstum reguliert.

Hinsichtlich der Belichtung unterliegt also die Photosynthese in einem Gewässer nicht nur zeitlichen Zyklen saisonaler und diurnaler Natur, sondern auch räumlichen Inhomogenitäten z.B. in Form von Schichtungen. Deshalb sind Toleranzen im Photosyntheseverhalten der Algen gegenüber entsprechend verschiedenartigen Lichtangeboten von außerordentlichem Interesse für die Bewertung des potentiellen Energieumsatzes in Gewässersystemen.

Es sind die Pigmente der Algenzellen, wie vor allem die Chlorophylle, die einfallende Lichtquanten bestimmter Energie absorbieren und als Anregungszustände für photochemische Prozesse bereitstellen. Allein von dem photosynthetischen Hauptpigment Chlorophyll *a* geht in vivo eine Reemission in Form der Fluoreszenz aus. Unter physiologischen Temperaturen tritt die In-vivo-Fluoreszenz neben der Dissipation konkurrierend zum photochemischen Energieumsatz auf. Da sich das Fluoreszenzsignal des Chlorophyll *a* überaus vielschichtig zusammensetzt, läßt sich freilich nicht einfach eine inverse Beziehung zur Primärproduktion herstellen [Seaton und Walker, 1990].

Dunkeladaptierte eukaryotische Algen zeigen wie alle intakten Eukaryoten mit Einsetzen einer konstanten Belichtung einen charakteristischen Intensitätsverlauf der Fluoreszenz: den sogenannten Kautsky-Effekt. Dieser weist eine Art zeitliches Einschwingverhalten der Fluoreszenzintensität auf, bevor sich ein Gleichgewichtswert einstellt. Wesentlich wird dieser Verlauf durch den Reaktionszustand der an der Lichtreaktion beteiligten Komponenten bestimmt, der seinerseits vor allem vom Grad der Vorbelichtung abhängig ist.

Intensitätswerte der Vorbelichtung, die zur Quantifizierung der Primärproduktion unverzichtbar sind, mögen zunächst leicht meßbar erscheinen. Wird aber von einem unbestimmten Aufenthaltort der Algen ausgegangen, bedingt etwa durch ein turbulent fließendes Gewässer, läßt sich sofort vermuten, daß in diesem Fall eine direkte Meßbarkeit nahezu ausgeschlossen ist. Als eine Alternative bietet sich die Darstellung des Zusammenhangs zwischen den Intensitäten der Fluoreszenz und der Vorbelichtung durch ein Modell der Lichtreaktion an.

Die bislang entwickelten Modelle zur quantitativen Beschreibung des Intensitätsverlaufs der Fluoreszenz sind häufig detailliert auf bestimmte Teilprozesse der photosynthetischen Lichtreaktion ausgerichtet. Um die Vorbelichtung weitgehend einzubeziehen, war es nunmehr notwendig, ein Modell zu formulieren, welches die Prozesse der Lichtreaktion weitgehend zusammenfaßt und dabei die Lichtadaption der Algen explizit berücksichtigt. In einer solchen Formulierung besteht das Ziel dieser Arbeit.

In der vorliegenden Niederschrift wird zunächst im Kapitel 2 ein Überblick grundlegender Hypothesen zur photosynthetischen Lichtreaktion aus der Literatur mit dem Ziel erarbeitet, für eine Modellformulierung unmittelbar maßgebliche Mechanismen aufzuzeigen. In dem sich anschließenden Kapitel 3 werden verwendete Meßverfahren sowie entsprechende Befunde betreffs der optischen Eigenschaften und des Fluoreszenzverhaltens untersuchter Algen kurz vorgestellt. Ausgehend von diesen experimentellen Ergebnissen sowie den theoretischen Erkenntnissen wird im Folgekapitel 4 ein Modell zur mathematischen Beschreibung der Fluoreszenzinduktionskinetik unter bestimmten Annahmen formuliert und interpretiert. In dem Kapitel 5 erfolgt schließlich die Darstellung der mit dem Modell berechneten Ergebnisse und ihrer Anpassung durch eine geeignete Parameterauswahl an experimentell ermittelte Kurven für verschieden adaptierte Algen inbegriffen einer kritischen Bewertung.

2. Lichtumsetzung in eukaryotischen Algen

In den Hellphasen natürlicher Lichtzyklen läuft in aquatischen Ökosystemen die Photosynthese ab. Die Lichtenergie E_{abs} , die das Phytoplankton¹ absorbiert, wird vor allem in photochemische Energie E_{pc} umgewandelt oder in Form nichtphotochemischer Energie als Fluoreszenzemission E_{fl} und dissipativ als Wärme E_{d} wieder abgegeben:

$$E_{\text{abs}} = E_{\text{pc}} + E_{\text{fl}} + E_{\text{d}} \quad (2.1).$$

Grundlegend wird die spezifische Verteilung zwischen photochemischem und nichtphotochemischem Lichtenergieumsatz durch Zelleigenschaften bestimmt, die ihrerseits durch die Adaption in Bezug auf Vorbelichtung, Temperatur, Nährstoffangebot usw. beeinflusst werden. Da die Reemission durch Fluoreszenz verhältnismäßig einfach zu messen ist und das Signalverhalten vielschichtige Informationen über den Lichtenergieumsatz enthält, wird diesem Term ein breites Forschungsinteresse zuteil [z.B. Lichtenthaler, 1988a]. In den sich anschließenden Abschnitten werden hinsichtlich der Kinetik der Chlorophyll-*a*-Fluoreszenzintensität wesentliche biochemische und biophysikalische Zusammenhänge des Lichtenergieumsatzes dargestellt.

2.1 Die Photosynthese

Unter Ausnutzung der absorbierten Lichtenergie findet in speziellen Zellorganellen, den Chloroplasten, die aerobe Photosynthese der Eukaryoten² statt. Sie lässt sich, wie in Abb. 2.1 dargestellt, in eine Lichtreaktion (Primärprozeß) und eine Dunkelreaktion (Calvin-Zyklus) unterteilen.

Innerhalb der Chloroplasten befinden sich die aus Proteinen und Lipiden bestehenden Thylakoidmembranen mit einer Dicke von einigen Nanometern, die in Form komplexer Netzwerke räumlich angeordnet sind [s. z.B. Mustárdy, 1996]. Sie nehmen die Komponenten auf, welche an der Lichtreaktion der Photosynthese beteiligt sind. Zu einem großen Teil wird die absorbierte Lichtenergie zur Ladungstrennung und zum vektoriellen Ladungstransport durch die Thylakoidmembran genutzt. Dabei wird Wasser an der Innenseite der Thylakoidmembran in molekularen Sauerstoff, Protonen und Elektronen zerlegt. Die Elektronen gelangen über eine Vielzahl von Folgereaktionen zur Außenseite der Thylakoidmembran, wo sie NADP reduzieren (Abb. 2.1). Gekoppelt mit dem Elektronentransport gelangen in umgekehrter Richtung Protonen von der Außen- zur Innenseite der Thylakoidmembran. Bei fortwährender Aktivität der Photosynthese stellt sich im Gleichgewicht eine Differenz der Protonenkonzentration von etwa drei pH-Einheiten ein. Mit diesem Protonengradient ΔpH zwischen den beiden Seiten der Thylakoidmembran wird die Phosphorylierung von ADP angetrieben, bei der Protonen von der Innen- zur Außenseite der Thylakoidmembran geschleust werden.

¹ Phytoplankton und Algen werden in der vorliegenden Arbeit synonym als im Wasser schwebende photoautotrophe Organismen verstanden. Aufwuchsalgen (Phytobenthos) werden nicht explizit behandelt.

² Die Betrachtungen bleiben auf Eukaryoten beschränkt, die zytologisch im Unterschied zu Prokaryoten durch ausgebildete Zellorganellen, wie Zellkern und Chloroplasten gekennzeichnet sind.

Die Thylakoidmembran ist an der Außenseite von dem wäßrigen Chloroplastenstroma umgeben, in dem der Calvin-Zyklus abläuft. Indessen führt eine enzymkatalysierte Reduktion von Kohlendioxid unter Beteiligung von NADPH_2 zur Bildung von Kohlenhydraten, während die ATP-Umsetzung zu ADP und anorganischem Phosphat die notwendige Energie beisteuert. Der Prozeß der Photosynthese setzt sich aus zahlreichen biomolekularen Teilschritten zusammen, die in der Literatur u.a. von Lawlor [1990] ausführlich beschrieben werden.

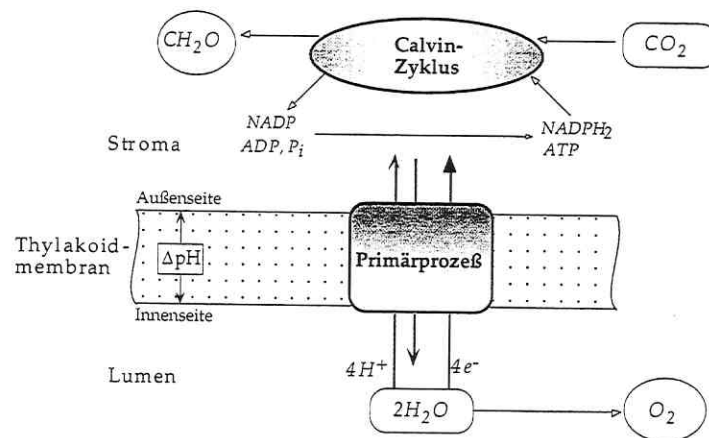


Abb. 2.1. Schematische Darstellung der Photosynthese (NADP: oxidiertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat, NADPH_2 : reduziertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat, ADP: Adenosin-Di-Phosphat, ATP: Adenosin-Tri-Phosphat, P_i : anorganisches Phosphat, CH_2O : Kohlenhydratbausteine).

Zusammenfassend lassen sich die Bilanz der Lichtreaktion:



die Bilanz der Dunkelreaktion:



bzw. die Bruttobilanz der Photosynthese:



angeben, wobei $h\nu$ die Energie absorbierter Photonen darstellt.

Licht, welches den photosynthetischen Prozeß antreibt, wird auch aktinisch genannt und liegt in einem Spektralbereich, der auf den spektralen Absorptionskoeffizienten $a(\lambda)$ der am Primärprozeß beteiligten Pigmente zurückgeht. In der Photosyntheseforschung wird in der Regel die Intensität der Photonenbestrahlung $I(\lambda)$ als Anzahl von Photonen bezogen auf eine Zeit- und Flächeneinheit sowie auf die Wellenlänge angegeben [Hartmann, 1982; Thimijian und Heins, 1983]. Dabei wird die Photonenanzahl nach der Division durch die Avogadrokonstante in mol bzw. μmol ausgedrückt. Anhand photosynthetischer Wirkungsspektren wird generell der Spektralbereich von 400 nm bis 700 nm definiert, über welchen häufig die Integration von $I(\lambda)$ erfolgt [s. z.B. Kirk, 1994]. Daraus resultiert die Intensität I der photosynthetisch aktiven

Strahlung in $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, die bevorzugt als PAR (photosynthetically active radiation) bezeichnet wird. Die Rate der Lichtabsorption durch die Zellpigmente J_a in $\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$ läßt sich nach Kiefer und Reynolds [1992] für eine optisch dünne Schicht angeben als:

$$J_a = \int_{400\text{nm}}^{700\text{nm}} a(\lambda) I(\lambda) d\lambda \quad (2.5).$$

Die Intensität der Photonenbestrahlung $I(\lambda)$ in $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{nm}^{-1}$ und die Intensität der energetischen Bestrahlung $E(\lambda)$ in $\text{W m}^{-2} \text{nm}^{-1}$ stehen in dem Zusammenhang:

$$I(\lambda) = \frac{E(\lambda)}{N_A h \nu} \quad (2.6),$$

wobei N_A die Avogadrokonstante bezeichnet. Die Frequenz ν kann aufgrund der Beziehung $c = \nu \lambda$ auch durch den Quotienten aus Vakuumlichtgeschwindigkeit c und Wellenlänge λ ersetzt werden. Grundsätzlich stellt die Intensität der Bestrahlung die zentrale abiotische Eingangsgröße der Photosynthese dar.

An vitalem Zellmaterial zeigt sich ein Zusammenhang zwischen Photosyntheserate P und der Intensität I der photosynthetisch aktiven Strahlung in Form charakteristischer P-I-Kurven, die mit einem Anstieg beginnend in eine Sättigung übergehen, wie in der Literatur von Jassby und Platt [1976] und McBride [1992] mathematisch mittels exponentieller Funktionen dargestellt. An die Sättigung kann sich für zunehmende I eine Photoinhibition einstellen, die mit reversiblen und irreversiblen Reaktionen in den Chloroplasten verbunden ist [s. Wilhelm et al., 1996; Baker und Bowyer, 1994; Richardson et al., 1983].

Die Photosyntheserate entspricht der Menge des produzierten Sauerstoffs bzw. des assimilierten Kohlenstoffs bezogen auf eine Zeiteinheit und eine spezifische Größe, wie Volumen, Chlorophyll-*a*-Gehalt oder Zellzahl. Die häufig unter Verwendung der ^{14}C -Methode quantifizierte Photosyntheserate bezeichnet in aquatischen Ökosystemen generell die Bildung von Biomasse aus anorganischem Kohlenstoff, also gewissermaßen die Primärproduktion [zur Übersicht s. Geider und Osborne, 1992; Harris, 1980]. Als Nettophotosyntheserate liegt die Photosyntheserate vor, wenn die Respirationsrate¹ und die Exsudationsrate² abgezogen werden. Nimmt die Nettophotosyntheserate bei $I > 0$ selbst den Wert null an, ergibt sich die kompensierende Intensität der Bestrahlung, aus der sich für aquatische Systeme die sogenannte Lichtkompensationstiefe ableitet.

Sowohl der Verlauf der P-I-Kurven als auch Lichtkompensationstiefen geben bilanzierend Auskunft über die Lichtumsetzung der Algenzellen [zur Übersicht s. Kirk, 1994; Kohl und Nicklisch, 1988]. Im einzelnen kann die Photosyntheserate jedoch auch durch spektrale und intermittierende Eigenschaften der Bestrahlung beeinflusst werden, wie Untersuchungen von Mallin und Pearl [1992] sowie Kromkamp und Limbeck [1993] zeigen. Nachfolgend werden qualitativ die Absorptionseigenschaften des Phytoplanktons beschrieben, die das Vermögen zur Lichtaufnahme als ersten Schritt der photosynthetischen Lichtreaktion charakterisieren.

¹ Respiration: die Abnahme des organischen Materials durch Hell- und Dunkelatmung entsprechend des Energiebedarfs zur Erhaltung des Zellstoffwechsels.

² Exsudation: die Ausscheidung von Zwischenprodukten aus dem Calvin-Zyklus. Bedingt durch eine Hemmung der Dunkelreaktion (z.B. Nährstoffmangel) bei ungehemmtem Ablauf der Lichtreaktion können sogenannte Exsudate (z.B. Polysaccharide) aus den Zellen geschleust werden und in Lösung gehen [Fogg et al., 1964].

2.2 Lichtabsorption der Algenzellen

Einfallende Lichtquanten des sichtbaren Spektralbereichs werden durch photosynthetische Pigmente absorbiert. Während Chlorophyll *a* in der Regel begleitet von Carotinoiden in allen photoautotrophen Organismen vorkommt, treten andere Pigmente artenspezifisch auf. Anhand dessen lassen sich z.B. nach Casper [1974] für die aerobe Photosynthese verschiedene Zweige formulieren:

- grüner Zweig: die Chlorophyta mit Chlorophyll *b*,
- brauner Zweig: die Chromophyta mit Chlorophyll *c*,
- roter Zweig: die Rhodophyta mit Chlorophyll *d* und Phycobilinen,
- blauer Zweig: die Cyanophyta¹ mit Phycobilinen.

Unter weißem Licht erscheinen die Organismen der einzelnen Zweige mit einer Färbung, die durch den am wenigsten absorbierten Spektralanteil des Lichts entsteht.

2.2.1 Absorptionsbestimmende Zelleigenschaften

Die photosynthetischen Pigmente lassen sich in das Hauptpigment Chlorophyll *a*, im weiteren abgekürzt Chl *a*, und in die zusätzlichen, sogenannten akzessorischen Pigmente unterteilen. Sowohl die spektralen Eigenschaften als auch die absolute Größe der Absorption des Phytoplanktons, wie für zwei Beispiele in Abb. 2.2 dargestellt, hängen vor allem von der zellspezifischen Pigmentkonzentration und -ausstattung ab [von Smekot-Wensierski et al., 1992].

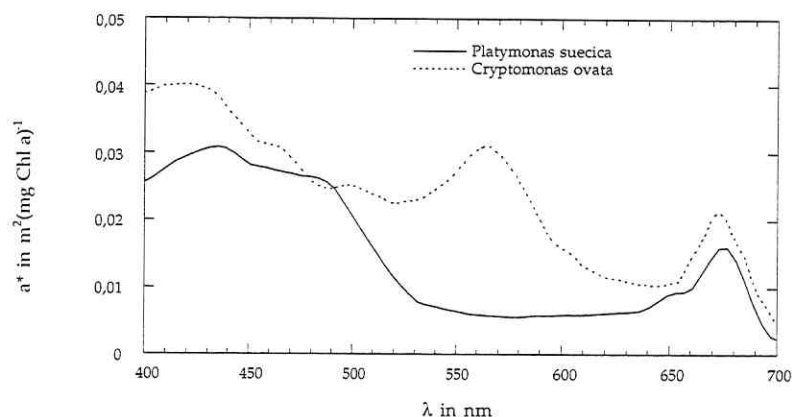


Abb. 2.2. Absorptionsspektren der Alge des grünen Zweigs *Platymonas suecica* und der Alge *Cryptomonas ovata* des braunen Zweigs nach Daten aus der Literatur [von Smekot-Wensierski et al., 1992; Gege, 1994]. Der spezifische Absorptionskoeffizient a^* bezieht sich auf die Chl-*a*-Konzentration in $\text{mg Chl } a \text{ m}^{-3}$ der Algen.

¹ Cyanophyta: aerob mit Hilfe von Bacteriochlorophyllen photosynthetisch aktive Spezies. Aufgrund der Zytologie werden Cyanophyta jedoch zu der Gruppe der photosynthetischen Prokaryoten gezählt, zu denen auch die Bacteriophyta gehören, welche photosynthetisch anaerob aktiv sind [s. z.B. Ames und Vasmel, 1986].

In den Chloroplasten tritt Chl *a* in Form verschiedener Chlorophyll-Protein-Komplexe auf, die sich in den Absorptionsspektren unterscheiden [s. Murata und Satoh, 1986]. Für In-vivo-Untersuchungen ergeben sich ausgeprägte Absorptionsbanden im blauen (400 nm bis 450 nm) und roten (650 nm bis 700 nm) Spektralbereich. Die spezifischen Absorptionseigenschaften des Chl *a* werden demnach durch die Aggregationsbedingungen des Pigments beeinflusst. Im Vergleich zu monomeren Chl-*a*-Molekülen in organischen Lösungsmitteln [zur Übersicht s. Rowan, 1989], wie beispielsweise Chl *a* gelöst in Aceton mit den Hauptabsorptionsmaxima bei 430 nm und 660 nm, wird bei proteingebundenen Chl-*a*-Komplexen von einer langwelligen Verschiebung der Absorptionsbanden ausgegangen.

Das Makromolekül Chl *a* ($C_{55}H_{72}N_4O_5Mg$) setzt sich aus einem modifizierten Porphyrinring mit einem zentralen Mg-Atom und einer Phytolkette zusammen. Durch das konjugierte π -Elektronensystem des Porphyrinrings sind die optischen Eigenschaften des Moleküls festgelegt. Wird ein Photon entsprechender Energie vom System absorbiert, bewirkt es einen angeregten Zustand des Moleküls. Der erste Anregungszustand S_1 wird durch die Absorption roten Lichts hervorgerufen, während die Absorption blauen Lichts einen höheren Anregungszustand S_n verursacht (Abb. 2.3). Naturgemäß werden bei Temperaturen über dem absoluten Nullpunkt die elektronischen Anregungszustände der Moleküle durch Rotations- und Vibrationszustände begleitet. Die Biopolymere der Pigment-Protein-Komplexe zeigen speziell eine Kopplung der Vibrationsniveaus zwischen Pigmenten und Proteinmatrix, welche die Feinstruktur der Absorptionsbanden beeinflussen [Rebane, 1993; Renger, 1992].

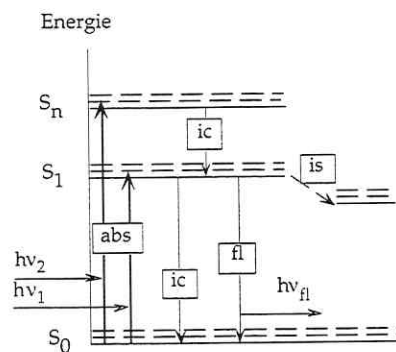


Abb. 2.3. Energieniveauschema von monomerem Chl *a*. Die Absorption von Photonen (abs) führt aus dem Grundzustand (S_0) zu angeregten Zuständen (S_1 , S_n) der Moleküle, die durch strahlungslose innere Umwandlung (ic) und durch Fluoreszenz (fl) mit $h\nu_n < h\nu_1 < h\nu_2$ zurückgesetzt bzw. durch sog. Intersystemcrossing (is) weitergeleitet werden [nach Owens, 1991].

Die akzessorischen Pigmente liegen in den Chloroplasten arten- und entwicklungsbedingt in bestimmten Verhältnissen zum Chl *a* ebenfalls proteingebunden vor [s. Wilhelm, 1990; Wilhelm und Manns, 1991]. Sie erhöhen z.T. die spektrale Empfindlichkeit gerade dort, wo Chl *a* schwächer absorbiert [zur Übersicht s. Kirk, 1994]. Chlorophyll *b* und *c* besitzen eine ähnliche Struktur wie Chl *a* mit dem Unterschied verschiedener funktioneller Gruppen an den Pyrrolringen. Entsprechend überlappen sich die Absorptionsbanden von Chlorophyll *b* und *c* mit denen des Chl *a*, wobei die Hauptabsorptionsbanden etwas enger im sichtbaren Spektralbereich zusammenliegen. Phycobiline bestehen jeweils aus einem Chromophor, sind an spezifi-

sche Proteine gebunden und absorbieren Licht in einem Bereich von 500 nm bis 650 nm. Die Absorptionsmaxima der Carotinoide erstrecken sich über ein Wellenlängenintervall von 380 nm bis 550 nm. Carotinoide, eine akzessorische Pigmentgruppe der Carotine und Xanthophylle, setzen sich aus Isopreneinheiten in Form von langen Kohlenwasserstoffketten zusammen.

Neben der Pigmentausrüstung bestimmt schließlich der Zellaufbau die Absorptionseigenschaften des Phytoplanktons. Generell wird Plankton mit den mittleren Zellausmaßen von 0,2 μm bis 2 μm als Pikoplankton, von 2 μm bis 20 μm als Nanoplankton und von 20 μm bis 200 μm als Mikropilankton bezeichnet, d.h. in Bezugnahme auf die Größenordnung des Lebendgewichts klassifiziert [Sieburth et al., 1978]. Obwohl die äußere Geometrie der Zellen vielfältigste Formen zeigt, wird häufig eine Kugelform als Modellannahme zugrunde gelegt [Morel, 1990; Kitchen und Zaneveld, 1992].

Untersuchungen der Absorption von Phytoplankton, bezogen auf den Chl-*a*-Gehalt wie in Abb. 2.2, ergeben den spezifischen Absorptionskoeffizienten $a^*(\lambda)$. Anhand dieser Größe lassen sich Eigenschaften der inneren und äußeren Zellstruktur in Abhängigkeiten vom Entwicklungszustand dokumentieren [Kiefer et al., 1979; Dubinsky, 1992]. Verschiedene spezifische Absorptionskoeffizienten sind durch folgende Faktoren bedingt: (i) Zellgröße und -form; (ii) Chloroplastengröße, -form, -anzahl und -verteilung innerhalb der Zelle; (iii) Grad der Stapelung der Thylakoidmembranen in den Chloroplasten; (iv) optische Eigenschaften der Thylakoidmembranen; (v) relative Häufigkeit von Chl *a* und den akzessorischen Pigmenten [Berner et al., 1989]. Die ersten vier Faktoren beschreiben den sogenannten "package effect" und damit auch die Selbstabschattung der Pigmente untereinander, während der letzte Faktor die Pigmentausrüstung der Zelle charakterisiert.

2.2.2 Absorptionsänderungen des Zellmaterials

Die Entwicklung des Zellmaterials kann durch Streßfaktoren, d.h. Einflüsse jenseits vorteilhafter Lebensbedingungen, wie extreme Temperaturen, Lichtintensitäten, Nährstoffverhältnisse usw., verstärkt zu einer Änderung in der Pigmentausrüstung der Chloroplasten führen [Babin et al., 1993; Dubinsky, 1992; Heath et al., 1990]. Wie bei sämtlichen Adaptionsvorgängen wird letztendlich auch der Zellstoffwechsel bis zu einem gewissen Grad an geänderte Umweltbedingungen angepaßt. Die Zeitverläufe dieser Anpassungen sind nur selten genau zu definieren. Es werden langfristig evolutionsbedingte, mittelfristig modifikative und kurzfristig direkte Anpassungen unterschieden [Schlee, 1992].

Anpassungen des Absorptionsverhaltens des Phytoplanktons an das Lichtklima beispielsweise in verschiedenen Wassertiefen sind bereits länger nachgewiesen und wurden als chromatische Adaption beschrieben [Ruttner, 1952]. Ein Beispiel für die evolutionsbedingte Anpassung liefern die Rhodophyta, die in Wassertiefen mit vornehmlich grünem Lichtangebot aufgrund ihrer Pigmentierung prädestiniert existieren können. Die Anpassung der Absorptionseigenschaften über die Pigmentierung oder Zellstruktur des Phytoplanktons an eine geänderte Lichtquantität bzw. -qualität kann aber auch modifizierend oder direkt und reversibel ablaufen und wird prinzipiell als Photoadaptation betrachtet [Ramus, 1978; Dring, 1981]. Für eine Umkehrbarkeit kurzfristiger Anpassungen der Pigmentverhältnisse sind spezielle Biosynthesen zuständig, die z.B. Chl *a* über entsprechende Derivate auf- und abbauen können [Owens und

Falkowski, 1981; Ignatov und Litvin, 1995]. Eine angepaßte Pigmentausstattung auf eine Intensitätsänderung der Bestrahlung stellt sich an untersuchten Algen des grünen Zweigs nach einigen Tagen ein, wobei Veränderungen der Pigmentverhältnisse und des Chl-*a*-Gehaltes bezogen auf die Anzahl der Zellen im Stundenbereich nachweisbar sind [Berner et al., 1989].

2.3 Die photosynthetische Lichtreaktion

Der Aufbau der photosynthetischen Einheit (PSU: photosynthetically unit) steht in einem engen funktionellen Zusammenhang zur photosynthetischen Lichtreaktion. Obgleich bestimmte Komponenten bislang strukturell bzw. funktionell nicht exakt entschlüsselt werden konnten, ergibt sich aus zahlreichen Teilergebnissen ein zunehmend fundiertes Bild der Photosynthese [zur Übersicht s. Whitmarsh und Govindjee, 1996]. Es kooperieren beispielsweise eine Vielzahl von Pigmenten, die nach der Lichtabsorption elektronische Anregungszustände auf das Hauptpigment übertragen. Diese Energieleitung, bei der es sich um einen Exzitonentransfer handelt, findet mit einer gewissen Übergangswahrscheinlichkeit statt und kann mit Hilfe quantenmechanischer Theorien erklärt werden [Fleming und van Grondelle, 1994; Eberl et al., 1994]. In mehr als zwölf Zeitgrößenordnungen (fs- bis ms-Bereich) finden die verschiedenen Teilprozesse der Lichtreaktion in Form von Absorption, Exzitonentransfer und Relaxation sowie Ladungstrennung, Ladungstransport und Rekombination statt, die den Lichtenergieumsatz der PSU mannigfaltig steuern. Die Übergänge, die zu einem photochemischen Energiegewinn führen und entsprechend beteiligte Komponenten werden anschließend vereinfacht und knapp geschildert.

2.3.1 Funktionseinheiten der Lichtreaktion

An der Thylakoidmembran fixierte und mobile Molekülkomplexe, die notwendig sind, eine Lichtreaktion gemäß Gl. (2.2) zu realisieren, bilden eine PSU (Abb. 2.4). In Eukaryoten wird von zwei seriell arbeitenden lichtempfindlichen Proteinkomplexen, den Photosystemen PS I und PS II, ausgegangen, die über den Cytochromkomplex¹ (Cyt b/f) in Verbindung stehen. Mit der Photolyse von Wasser setzt im Lumen am PS II ein vektorieller Elektronentransport durch die Thylakoidmembran ein, der am PS I mit der Reduktion von NADP im Stromabereich abgeschlossen wird. Zwischen den fixierten Komplexen PS II und Cyt b/f werden Elektronen durch die in der Membran beweglichen Plastochinone (PQ) transportiert, während der Elektronentransport zwischen Cyt b/f und PS I durch ein im Lumen bewegliches Plastocyanin PC erfolgt. Diese Aneinanderreihung von Komplexen wird in der Literatur verschiedentlich als photosynthetische Elektronentransportkette beschrieben [s. z.B. Staehelin und van der Staay, 1996]. Die Plastochinone (PQ) translozieren überdies, verknüpft mit dem Elektronentransport, Protonen aus dem Stroma in das Lumen, wobei sie unterdessen reduziert als PQH₂ vorliegen. Dadurch wird neben der Protonenfreisetzung durch die Photolyse von Wasser die Protonenkon-

¹ Der Cytochromkomplex wird in der Literatur häufig beziehungsweise auf seine Proteinzusammensetzung in eukaryotischen Zellen als Cytochrom *b₆f* Komplex bezeichnet [z. B. Hauska et al., 1996].

zentration im Lumen erhöht. Die ATP-Synthetase¹ (CF), ein weiterer fixierter Komplex, nutzt den bei der Lichtreaktion über der Thylakoidmembran entstehenden Protonengradienten als Antrieb zur Phosphorylierung von ADP im Stroma.

Stöchiometrisch variieren die Verhältnisse zwischen den Komplexen, welche im einfachsten Fall der Betrachtung eins gesetzt werden, in Abhängigkeit von der Spezies und deren Adaptation, wie beispielsweise Untersuchungen des Verhältnisses von PS II zu PS I anhand der Reaktionszentren von Falkowski et al. [1981] belegen.

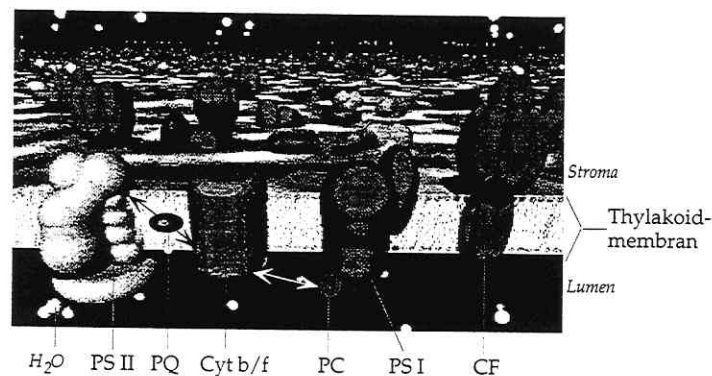


Abb. 2.4. Physische Grundstruktur der photosynthetischen Einheit PSU unter Verwendung einer Darstellung von Lexa [1996] mit PS II: Photosystem II, PQ: Plastoquinon, Cyt b/f: Cytochromkomplex, PC: Plastocyanin, PS I: Photosystem I, CF: ATP-Synthetase.

2.3.2 Ladungstrennung

Lichtinduzierte Ladungstrennungen, welche den photosynthetischen Prozeß auslösen, finden in den beiden Photosystemen PS I und PS II statt. Diese Systeme setzen sich, wie in Abb. 2.5 schematisch dargestellt, jeweils aus dem Antennenpigmentsystem² (LHC: light harvesting complex) und einem Reaktionszentrum (RC: reaction center) zusammen; eine Betrachtungsweise, die sich besonders mit dem Modellvorschlag von Butler und Kitajima [1975] bzw. Butler [1978] durchgesetzt hat. Um die Mechanismen der Ladungstrennung anhand elementarer Funktionsmuster zu veranschaulichen, werden die beiden Photosysteme ohne Berücksichtigung struktureller Unterschiede zunächst einer gemeinsamen Betrachtungsweise unterworfen.

Antennenpigmente, d.h. Chl *a* und akzessorische Pigmente des LHC, bilden durch die Absorption aktinischen Lichts innerhalb einer Zeit von etwa 10^{-15} s Exzitonen aus. Neben einem Anteil, der im Chl *a* durch die Energieabgabe in Form von Wärme und Fluoreszenz relaxiert, wie

¹ In der Nomenklatur der Photosyntheseforschung wird die ATP-Synthetase hinsichtlich einer Unterteilung bevorzugt durch CF₀-CF₁ abgekürzt [s. McCarty, 1996].

² Unter dem Antennenpigmentsystem LHC werden nachfolgend sämtliche Pigmentanordnungen eines Photosystems außerhalb seines Reaktionszentrums als funktionelle Einheit verstanden. Proteingebundene Substrukturen, wie u.a. von Simpson und Knoetzel [1996] näher ausgeführt, werden vernachlässigt.

bereits in Abb. 2.3 angedeutet, werden die Exzitonen auf benachbarte Moleküle übertragen. Dieser Resonanzenergietransfer vollzieht sich in Zeiten um 10^{-12} s, abhängig von der Art der am Übergang beteiligten Moleküle sowie deren Abstand und Dipolausrichtung zueinander. Verschiedene Varianten des Übergangs wurden von Renger [1992] sowie van Grondelle und Amesz [1986] unter Aspekten der Kristallphysik diskutiert.

In der Regel werden, wie in Abb. 2.5 durch die Pfeile markiert, innerhalb des LHC die Exzitonen der akzessorischen Pigmente unumkehrbar zu den Chl-*a*-Pigmenten weitergeleitet [Owens, 1991]. Die Chl-*a*-Pigmente des LHC können sowohl durch übertragene Exzitonen als auch durch direkte Absorption aktinischen Lichts angeregt werden, bevor der Primärdonator des RC Exzitonen aus nahe gelegenen Chl-*a*-Pigmenten des LHC empfängt. Über 90% des durch den LHC absorbierten Lichts gelangen auf diesem Weg unter optimalen Bedingungen in einer Zeitgrößenordnung von 10^{-10} s zum RC [Whitmarsh und Govindjee, 1996].

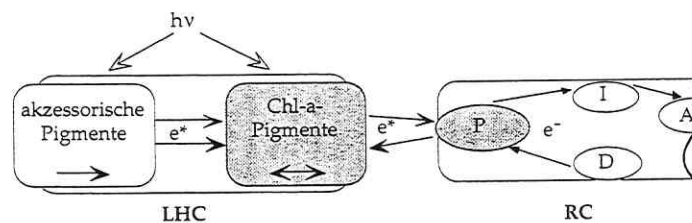


Abb. 2.5. Prinzipielles Funktionsmuster der Photosysteme. Dargestellt sind das Antennenpigmentensystem LHC und das Reaktionszentrum RC. Die Pigmente werden durch die Energie $h\nu$ absorbierter Photonen angeregt. Entsprechend der Pfeilrichtungen können im Photosystem Exzitonen e^* bzw. Elektronen e^- übertragen werden. P, I, D und A symbolisieren Akzeptor- bzw. Donorkomplexe des RC (Weitere Erläuterungen siehe Text).

Allein die akzessorische Pigmentgruppe der Carotinoide zeigt zusätzlich eine Schutzfunktion des Hauptpigments Chl *a* gegenüber extrem hohen Intensitäten der Bestrahlung und Bestrahlungen mit hohem UV-Anteil. Vermehrt auftretende Triplett-Anregungszustände des Chl *a* können auf Carotinoide übertragen werden, wodurch eine Oxidation von Chl *a* mit Sauerstoff im Triplettgrundzustand verhindert wird. Außerdem bauen Carotinoide reaktive Singulettzustände des Sauerstoffs ab, die andernfalls destruktive Oxidationen photosynthetischer Komponenten verursachen können [Lawlor, 1990]. Überschüssige Energie wird, wie von Demming-Adams [1990] beschrieben, von den Carotinoiden aufgenommen und zum Teil dissipativ abgegeben, wodurch sich die in Abs. 2.1 erwähnte Photoinhibition, d.h. eine vorübergehend verminderte Photosyntheserate, einstellt.

Sinnbildlich lassen sich die LHC der Photosysteme als eine Art Trichter für das einfallende Licht verstehen. Aufgrund dessen, daß Chl *a* sowohl Antennenpigmente als auch die Primärdonatoren der Reaktionszentren in den Photosystemen stellt, wird es als Hauptpigment der Photosynthese bezeichnet. In der Regel wird davon ausgegangen, daß der Primärdonator P, der aus einem speziellen, jeweils dem Reaktionszentrum entsprechendem Chl-*a*-Dimer besteht, vor allem durch Exzitonen aus dem Antennenpigmentensystem angeregt wird. Eine direkte Absorption bzw. Lichtanregung des Primärdonators, die grundsätzlich möglich ist, wird weiterhin vernachlässigt, da auf einen Primärdonator mehr als einhundert Antennenpigmente entfallen [Renger et al., 1987; Pålsson et al., 1995].

Ein Reaktionszentrum RC im Photosystem erfährt die unmittelbare Anregung des Primärdonators P durch ein Exziton e^* bzw. im Fall isolierter RC durch ein entsprechendes Photon gemäß Übergang (2.7a), gefolgt von der Sequenz (2.7b). In dieser findet die Ladungstrennung durch Ausbildung eines Radikalpaars, bestehend aus dem oxidierten Primärdonator und dem reduzierten Primärakzeptor, statt [zur Übersicht s. Angerhofer und Bittl, 1996]. Diese Ladungstrennung wird durch die Übertragung des Elektrons (2.7c) vom Primärakzeptor I auf den Sekundärakzeptor A stabilisiert. Ein Elektron des Sekundärdonators D neutralisiert hingegen die zurückgebliebene positive Ladung am Primärdonator im Reaktionsschritt (2.7d), womit P wiederum im Grundzustand vorliegt.



Während sich die unmittelbare Anregung (2.7a) unterhalb 10^{-12} s vollzieht, findet die primäre Ladungstrennung (2.7b) in einer Zeit von 10^{-12} s statt. Die Folgesequenz (2.7c) dauert zwischen 10^{-11} s und 10^{-10} s. In Abhängigkeit von den Photosystemen unterscheidet sich die Zeit für den Übergang (2.7d) um Größenordnungen, wobei für das Reaktionszentrum des PS II eine Zeit um 10^{-7} s und für das des PS I um 10^{-4} s abgeschätzt wird [Diner und Babcock, 1996 sowie Malkin, 1996].

Mögliche Rückreaktionen, die in den Gln. (2.7a bis d) nicht berücksichtigt sind und nach Butler [1978] quasi allein für das PS II kennzeichnend auftreten, erhöhen die Exzitonendichte in den Chl-*a*-Antennenpigmenten durch Rückübertragung vom RC zum LHC (Abb. 2.5), womit die Relaxationsrate in Form verstärkter Wärmeabgabe und Fluoreszenzemission zunimmt. Rückreaktionen treten verstärkt dann auf, wenn es im Reaktionszentrum zu einem verminderten Ladungsabfluß kommt. Im Extremfall, wenn keine Ladungen abfließen, d.h. Donatoren oxidiert bzw. Akzeptoren reduziert vorliegen, geht das Reaktionszentrum in einen sogenannten geschlossenen Zustand über, wodurch sich die größtmögliche Relaxationsrate einstellt.

In der Struktur unterscheiden sich die beiden Photosysteme u.a. wesentlich durch die proteingebundene Komplexstruktur der Antennenpigmente und deren Anlagerung an das jeweilige Reaktionszentrum. Zudem zeigen sich Verschiedenheiten in der Unterstruktur, Pigmentkomposition und -konzentration der den Photosystemen entsprechend zugehörigen LHC I bzw. LHC II, woraus schließlich die spezifischen optischen Eigenschaften der Systeme resultieren [zur Übersicht s. Simpson und Knoetzel, 1996 sowie Melis, 1996]. Die Pigmentanordnung hinsichtlich des Energietransports läßt sich, wie von Eliseeva und Kukushkin [1991] für LHC II gezeigt, durch Matrixmodelle verträglich beschreiben.

Heterogenitäten der Photosysteme können nach Lavergne und Briantais [1996] für PS II in dynamisch und statisch unterteilt werden. Als dynamisch gelten dabei Zustandsübergänge ('state transitions'), die die Energieverteilung zwischen PS I und PS II verschiedenen Lichtgegebenheiten kurzfristig anpassen¹, um den Ladungstransport zu optimieren. Durch eine vorübergehende Phosphorylierung des LHC II, die diesen Komplex partiell umstrukturiert und

¹ Kurzfristige Anpassung bezieht sich an dieser Stelle auf eine Zeitgrößenordnung im Minutenbereich, vergleichbar den Adaptionen in Abs. 2.2.2 und steht deshalb nicht im direkten Zusammenhang mit den kurzen Zeiten der Mechanismen zur Ladungstrennung.

wahrscheinlich von reduzierten Plastochinonen und/oder einem reduzierten Cytochromkomplex in der Elektronentransportkette ausgeht, wird letztendlich das Verhältnis der Absorptionskoeffizienten zwischen PS II und PS I zugunsten von PS I verschoben [Melis, 1996]. Es wird angenommen, daß diese Strategie in einzelligen Algen des grünen und blauen Zweigs vorherrschend auftritt [Laverne und Briantais, 1996].

Sogenannte 'spillover', d.h. quasi direkte Exzitonenübertragungen¹ zwischen den beiden Photosystemen vom LHC II zum LHC I, werden insbesondere an Phycobiline gebunden und damit für Algen des roten und blauen Zweigs betrachtet [Wolfe und Hooper, 1996]. Zu den statischen Heterogenitäten zählt das Vorkommen verschieden großer PS II-Typen, PS II α und PS II β . Es wird davon ausgegangen, daß die LHC II der PS II α zwei bis drei mal so groß sind wie die der PS II β [Hemelrijk und van Gorkom, 1996]. Die PS II α funktionieren dabei untereinander über einen Exzitonen austausch kommunikativ, während die PS II β isoliert arbeiten. Ähnliche Heterogenitäten der PS I, wie von Albertsson [1995] zusammengefaßt, führen zu einer gleichartigen Unterscheidung in PS I α und PS I β .

Die Exzitonenübertragung innerhalb der Photosysteme ist ferner vom LHC I zum Primärdonator (P₇₀₀) des RC I drei mal schneller als die vom LHC II zum Primärdonator (P₆₈₀)² des RC II, womit generell der Exzitonenfang ('trapping') einschließlich der Ladungstrennung des PS I schneller als der des PS II verläuft. Trissl und Wilhelm [1993] interpretieren dies im Endeffekt zusammen mit einer spezifischen separaten Anordnung der Photosysteme PS I und PS II als eine Strategie zur Steigerung der photosynthetischen Effizienz.

Schließlich unterscheiden sich die bislang allgemein betrachteten Redoxkomponenten elementar hinsichtlich der den Photosystemen entsprechenden zwei Reaktionszentren, wie z.B. von He und Malkin [1997] ausführlicher dargelegt und in der nachfolgenden Tab. 2.1 gegenüberstellend zusammengefaßt.

Redoxkomponente	RC II	RC I
zweiter Donator (D)	Tyrosin (Y ₂)	Plastocyanin (PC)
erster Donator (P)	Chl-a-Dimer (P ₆₈₀)	Chl-a-Dimer (P ₇₀₀)
erster Akzeptor (I)	Phaeophytin a (Pheo)	Chl-a-Monomer (A ₀)
zweiter Akzeptor (A)	Plastochinon (Q _A)	Phyllochinon (A ₁)
dritter Akzeptor (B)	Plastochinon (Q _B)	FeS-Zentren (F _x)

Tab. 2.1. Redoxkomponenten der Reaktionszentren, aufgelistet entsprechend der Zugehörigkeit zum jeweiligen Photosystem [in Anlehnung an Wolfe und Hooper, 1996]. Es sei angemerkt, daß Q_A und Q_B auch als erster und zweiter Chinonakzeptor des PS II bezeichnet werden.

Während sich die Primärdonatoren (P) und Primärakzeptoren (I) aus speziellen Pigmenten zusammensetzen, trägt der Sekundärakzeptor (A) jeweils Chinoncharakter. Die Sekundärdonatoren (D) werden im RC I durch ein im Lumen bewegliches kupferhaltiges Eiweiß und im

¹ Verschiedenen Orts wird in der Literatur der Begriff 'spillover' allgemein zur Beschreibung einer Anpassung der Energieverteilung zwischen LHC II und LHC I benutzt [z.B. Renger, 1982; Lawlor, 1990]. Aufgrund fortlaufender Untersuchungen verschiedenartiger Optimierungsmechanismen zur Energieverteilung zwischen den Antennenpigmentsystemen haben sich gegenwärtig differenzierte Begriffsbelegungen ergeben [s. z.B. Wolfe und Hooper, 1996; Staehelin und van der Staay, 1996].

² Die Indizierung der Primärdonatoren bezieht sich jeweils auf das langwellige Absorptionsmaximum des Chl-a-Dimers im entsprechenden RC.

RC II durch Aminosäuren-Tyrosin gebildet. Die Akzeptoren (B), im RC I durch ein FeS-Eiweiß und im RC II durch ein weiteres Chinon verkörpert, sind nicht mehr direkt an der Ladungstrennung sondern ausschließlich am folgend dargelegten Ladungstransport beteiligt.

2.3.3 Ladungstransport

Die Lichtreaktionen der beiden Photosysteme sorgen neben der Ladungstrennung für die notwendige Zufuhr an Energie, mit der die Elektronen im Transport eine Redoxpotentialdifferenz von 1,2 V zwischen H_2O (+0,8 V) und NADP (-0,4 V) überwinden. Zur Veranschaulichung wird häufig das sogenannte Z-Schema (Abb. 2.6) herangezogen, in welchem die beteiligten Reaktionskomponenten bezüglich ihrer mittleren Redoxpotentiale und der Richtung des Elektronentransports angegeben werden.

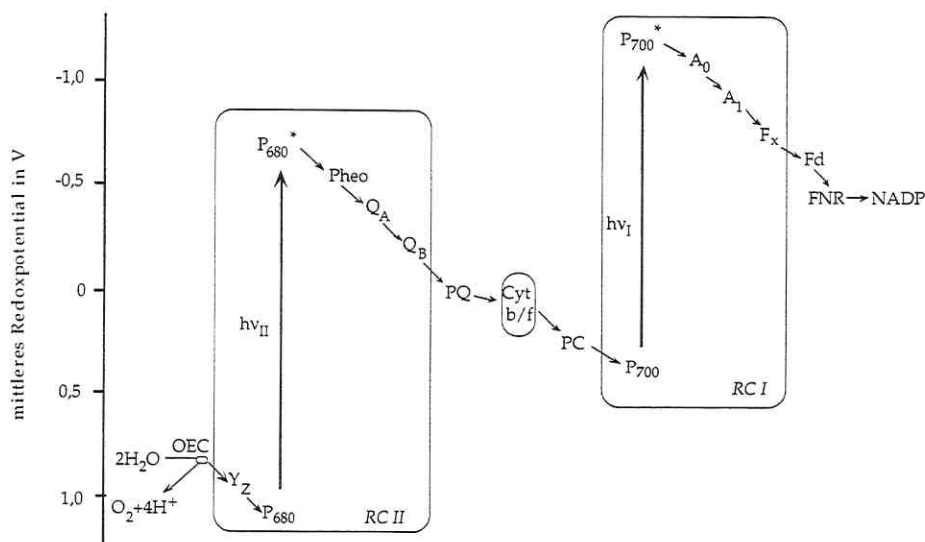


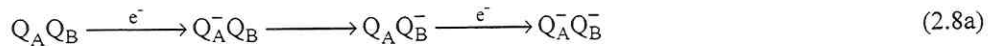
Abb. 2.6. Z-Schema der photosynthetischen Lichtreaktionen [nach Whitmarsh und Govindjee, 1996]. Die verschiedenen Anregungsenergien sind durch Photonen mit $h\nu_I$ und $h\nu_{II}$ dargestellt. LHC I und II sowie entsprechende Exzitonen wurden in der vorliegenden Abbildung vernachlässigt. Die diametralen Punkte des Elektronentransports sind durch Wasser als Donator und NADP als Akzeptor gekennzeichnet. Elektronen gelangen vom Wasser über den Sauerstoff entwickelnden Komplex OEC (Oxygen Evolving Complex) zum RC II, von dort aus über den Cytochromkomplex Cyt b/f unter Beteiligung des Plastochinons PQ und des Plastocyanins PC zum RC I, und von diesem schließlich über Ferredoxin Fd und Ferredoxin-NADP-Reduktase FNR zum NADP (Weitere Abkürzungen sind in der Tab. 2.1 vermerkt).

Liegt die lichtinduzierte Ladungstrennung stabilisiert gemäß dem rechten Term der Gl. (2.7d) vor, schließt sich der weitere Elektronentransport an, dessen Weg vor allem durch die Energetik der Reaktionen und den Abstand der Reaktionskomponenten vorgegeben ist [Whitmarsh und Govindjee 1996]. Diese Komponenten besitzen im Gleichgewicht jeweils ein mittleres Redoxpotential (Abb. 2.6), welches ihre Elektronenaffinität charakterisiert. Der Elektronen-

transport erfolgt somit entsprechend des energetischen Gefälles von niedrigeren (negativeren) zu höheren (positiveren) Potentialniveaus.

Das Phänomen der Wasserspaltung setzt am Sauerstoff entwickelnden Komplex OEC, der aus einem manganhaltigen Enzymsystem besteht, unter der Voraussetzung ein, daß vier Defektelektronen¹ aus dem RC II zur Verfügung stehen [zur Übersicht s. Britt, 1996]. Dabei liegt der mit dem RC II verbundene OEC in einem Redoxzustand S_i vor, mit $i = 0, \dots, 3$ als Kennzeichnung der Anzahl gespeicherter Defektelektronen [Renger, 1982]. Durch eine Elektronenabgabe des OEC an den oxidierten Sekundärdonator Y_Z^+ des RC II erhöht sich der entsprechende Redoxzustand, so daß sich S_{i+1} einstellt. Mit der Erlangung des Zustands S_4 rekombiniert OEC mit zwei Wassermolekülen und geht durch die Aufnahme von vier Elektronen in den Grundzustand S_0 über, wobei ein Sauerstoffmolekül O_2 und vier Protonen im Lumen freigesetzt werden. Die Reaktionszeit der Wasseroxidation beläuft sich auf etwa 1 ms, während die Übergangszeiten der Elektronen vom OEC zum Y_Z^+ abhängig vom Redoxzustand S_i des OEC zwischen 0,1 ms und 0,8 ms liegen. Wie Untersuchungen von Kok et al. [1970] zeigen, liegt nach einer Dunkeladaptation der Redoxzustand S_1 weitaus häufiger als der Grundzustand S_0 vor.

Bei fortwährender Lichtreaktion wird der Sekundärdonator Y_Z des RC II durch P_{680} ständig erneut oxidiert und im Gegenzug durch den OEC reduziert. Infolgedessen gelangen Elektronen vom Wasser über die Ladungstrennung gemäß der Gl. (2.7a-d) zum zweiten Akzeptor Q_A , welcher seinerseits durch den dritten Akzeptor Q_B oxidiert wird (Gl. 2.8a). Im Gegensatz zu Q_A kann Q_B doppelt reduziert werden und ist lediglich vorübergehend am RC II gebunden. Nach vollständiger Reduktion und der Anlagerung von zwei Protonen aus dem Stroma nimmt der Akzeptor die reduzierte Form Q_BH_2 an, löst sich von der Q_B -Bindungsstelle des RC II und geht als PQH_2 in die Thylakoidmembran über. Die vakante Q_B -Bindungsstelle wird durch ein im Grundzustand befindliches Plastochinon PQ aufgefüllt (Gl. 2.8b). Das reduzierte Plastochinon PQH_2 übernimmt nun als bewegliche Komponente innerhalb der Thylakoidmembran eine Doppelfunktion. Einerseits transportiert es Elektronen vom RC II zum Cytochromkomplex Cyt b/f und andererseits transloziert PQH_2 zugleich Protonen von der Außen- zur Innenseite der Membran (Gl. 2.8c). Die Übergänge wurden durch Crofts und Wraight [1983] folgendermaßen formuliert:



Für Gl. (2.8a) liegt die Dauer des Übergangs zwischen 0,1 ms und 0,6 ms, für Gl. (2.8b) bei 1 ms und für Gl. (2.8c) zwischen 1 ms und 15 ms [s. z.B. Falkowski und Raven, 1997]. Rückreaktionen, die in den obigen Gleichungen nicht berücksichtigt wurden, sind nach Crofts und Wraight [1983] für die Sequenzen der Gl. (2.8a) möglich.

¹ In Anlehnung an die Kristallphysik werden Defektelektronen als zurückbleibende positive Ladungen eines Donators nach seiner Oxidation, d.h. nach dem Entzug von Elektronen, bezeichnet. (Anmerkung: Zur Beschreibung der photosynthetischen Energieübertragung werden verschiedentlich Betrachtungsweisen und zugehörige Begriffe aus der Festkörperphysik verwendet [s. auch Hu und Schulten, 1997].)

Einem RC II ist ein Primärdonator P_{680} sowie ein Plastochinon Q_A zu eigen. Da die Plastochinone PQ bezogen auf den Akzeptor Q_A in einem Verhältnis von 5:1 bis 20:1 vorliegen [Falkowski und Raven, 1997], wird von einem sogenannten Plastochinonspeicher ('plastoquinone pool') innerhalb der PSU ausgegangen. Im Grundzustand diffundieren die einzelnen Plastochinone dieses Speichers durch die Membran, bis sie aufgrund zufälliger Zusammenstöße vakante Q_B -Bindungsstellen eines RC II besetzen [Whitmarsh und Govindjee, 1996]. Die Diffusion der reduzierten Plastochinone PQH_2 führt hingegen zum zufälligen Zusammentreffen mit einer freien spezifischen Bindungsstelle eines Cytochromkomplexes Cyt b/f, an dem sie oxidiert werden. Infolge dieser Diffusionsprozesse und der zweidimensionalen Anordnung der Komponenten in der Membran, wie in Abb. 2.4 angedeutet, läßt sich streng genommen keine funktionell eindeutige Zuordnung der Komponenten zu einer 'bestimmten' photosynthetischen Einheit angeben.

Am Cytochromkomplex Cyt b/f wird der mit Hilfe der Plastochinone transportierte Wasserstoff wieder in Protonen und Elektronen zerlegt. Dieser membrangebundene Komplex Cyt b/f beinhaltet einen Verband von Redoxzentren [s. Hauska et al., 1996], von denen das FeS-Protein und das Cytochrom f unmittelbar am Elektronentransport beteiligt sind. Über diese Zentren gelangen zwei Elektronen aufeinanderfolgend an die Bindungsstelle für das Plastocyanin PC. Als Zeit für die Reduktion des PC wird von Falkowski und Raven [1997] etwa 1 ms angegeben. Außerdem wird die Oxidation des PQH_2 gemäß Gl. (2.8c) von der Protonenabgabe begleitet. Die Protonen werden in das Lumen geschleust und tragen neben den bei der Wasserspaltung freigesetzten Protonen zur Erhöhung ihrer Konzentration im Lumen bzw. zur Entwicklung des Protonengradienten über der Thylakoidmembran bei.

Zwischen dem Cytochromkomplex und dem Primärdonator P_{700} des PS I werden die Elektronen im Lumen entlang der Innenseite der Thylakoidmembran mittels Plastocyanin¹ übertragen. PC arbeitet diesbezüglich, wie in Abs. 2.3.2 vorgestellt, als Sekundärdonator des PS I bei einer Übergangsdauer von 0,2 ms. Entsprechend der Diffusion der Plastochinone PQ zieht laut Whitmarsh und Govindjee [1996] auch die Diffusion der Plastocyanine eine Interaktion mehrerer PS I und Cytochromkomplexe nach sich. Überdies hängt die Beweglichkeit des PC, wie von Gross [1996] diskutiert, in einem gewissen Maß von der sich ausbildenden Protonenkonzentration im Lumen ab.

Nach der Ladungstrennung im RC I, die durch den zweiten Akzeptor A_1 des RC I stabilisiert wird, gelangen die Elektronen in einer Zeit zwischen 10^{-8} s und 10^{-7} s von A_1 zum dritten Akzeptor F_x . Dieser Akzeptor wird über ein weiteres Intermediat² oxidiert, welches seinerseits Ferredoxin Fd reduziert. Der Elektronenübergang von F_x zu Fd benötigt nach Falkowski und Raven [1997] eine Zeit von weniger als 0,1 ms, während He und Malkin [1997] verschiedene Zeiten für die Reduktion von Fd anführen, die auf noch nicht vollständig geklärte Übergangsmechanismen zurückgehen. An der Außenseite der Thylakoidmembran werden die Elektronen von Fd über das Enzymsystem Ferredoxin-NADP-Reduktase (FNR) auf $NADP$ ³ übertragen, welches dann reduziert als NADPH letztendlich Ladungen zur CO_2 -Fixierung im Calvin-Zyklus beisteuert.

¹ Plastocyanin kann nach Gross [1996] unter Kupfermangel durch ein Cytochrom c ersetzt werden.

² Das Intermediat wurde in Abb. 2.6 als Redoxkomponente vernachlässigt. Es handelt sich um ein weiteres eisen-schwefelhaltiges Protein F_A/F_B [s. z.B. Malkin, 1996].

³ NADP wurde bereits in Abb. 2.1 als oxidiertes Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat eingeführt, wobei auf eine explizite Kennzeichnung einer positiven Ladung im Sinne von $NADP^+$ verzichtet wurde.

Die stöchiometrische Zusammensetzung der Komplexe in der Thylakoidmembran hängt, wie in Abs. 2.3.1 erwähnt, von den Aufwuchsbedingungen der Zellen ab. Untersuchungen von Neale und Melis [1986] dokumentieren eine lichtadaptierte Zellentwicklung, bei der das Verhältnis von RC II zu RC I für schwachlichtadaptierte Zellen etwa eins beträgt, während es für starklichtadaptierte Zellen auf fast zwei ansteigt. Gleichfalls variieren die Größen der zugehörigen Antennenpigmentsysteme in der Form, daß der Chlorophyllgehalt ($\text{Chl } a + b$) schwachlichtadaptierter Zellen zunimmt. Im wesentlichen lassen sich die für eine bestimmte Spezies ermittelten Zahlenverhältnisse innerhalb einer Toleranz von ungefähr 20% auf anderes Zellmaterial übertragen [Whitmarsh, 1998].

Mit dem Elektronentransport vom Lumen durch die Thylakoidmembran in das Stroma ist, wie durch Gl. (2.8c) angedeutet, der entgegengesetzte Transport von Protonen gekoppelt. Bei der Lichtreaktion entwickelt sich über der Membran ein Protonengradient, der die Phosphorylierung des ADP über die ATP-Synthetase antreibt [zur Übersicht s. McCarty, 1996]. Änderungen dieses Protonengradienten haben einen rückwirkenden Einfluß auf den Elektronentransport, wie Untersuchungen von Schönknecht et al. [1995] belegen. Es wird von einer Regulierungsfunktion in bezug auf überschüssige Anregungszustände ausgegangen, wobei die molekularen Mechanismen bislang größtenteils ungeklärt sind. Für den Elektronentransport gehen Kramer und Crofts [1996] davon aus, daß die Zustandsübergänge des OEC, die Oxidation des PQH_2 am Cyt b/f und das mittlere Redoxpotential des PC im Lumen beeinflußt werden.

Vorangehend wurde der Elektronentransport linear (nichtzyklisch) beschrieben. Dies setzt ein Transportverhältnis der Konzentrationen $[\text{H}^+]/[\text{e}^-]$ von eins voraus, das jedoch anhand von Messungen häufig näher bei einem Wert von zwei gefunden wurde [Falkowski und Raven, 1997]. Besonders darauf gestützt wird angenommen, daß über zwei weitere Redoxzentren (Cytochrome b_6) des Cytochromkomplexes Elektronen aus der Oxidation des PQH_2 intern zu einer zweiten Bindungsstelle des Cytochromkomplexes gelangen, an der Plastochinone zusätzlich reduziert werden können. Darauf basierend läßt sich ein sogenannter Q-Zyklus formulieren, durch den sich das gemessene $[\text{H}^+]/[\text{e}^-]$ -Verhältnis erklären läßt [s. Hauska et al., 1996]. Darüber hinaus werden in der Literatur z.B. von Arnon [1995] verschiedene Hypothesen zu nichtlinearen Ladungstransportwegen, wie u.a. zyklische Elektronenflüsse um PS I und PS II, hinsichtlich der funktionellen und strukturellen Einordnung innerhalb der Gesamtkonzeption der PSU diskutiert.

Der theoretisch minimale Energiebedarf der Lichtreaktion zur Freisetzung eines O_2 -Moleküls beträgt 8 hv , d.h. jeweilig sind mindestens vier Lichtreaktionen der beiden seriell arbeitenden Photosysteme notwendig, um molekularen O_2 zu bilden. Durch Messungen unter optimalen Bedingungen wurde u.a. auch für Algen ein Verhältnis von 8 bis 10 hv pro O_2 -Molekül bestätigt [zitiert in Whitmarsh und Govindjee, 1996]. Eine Limitierung des Elektronentransports erfolgt zwischen PS II und PS I konkret durch den Übergang Gl. (2.8c), der den langsamsten Schritt in der Abfolge der Reaktionssequenzen zwischen H_2O und NADP darstellt.

Verschiedene physiologisch toxische Stoffe wirken als künstliche Redoxsysteme an bestimmten Punkten der Elektronentransportkette, so daß der photochemische Energieumsatz gehemmt oder blockiert wird [zur Übersicht s. Lawlor, 1990]. Sie werden nicht allein als Pflanzengift, sondern häufig zur Untersuchung der photosynthetischen Lichtreaktion eingesetzt, wie noch im folgenden für ein Beispiel dargelegt wird.

2.4 Fluoreszenzemission

Ein Teil der durch Algen absorbierten Lichtenergie wird, entsprechend Gl. (2.1), in Form des Fluoreszenzlichts reemittiert. Es handelt sich vor allem um die als prompt oder spontan bezeichnete Fluoreszenzemission der Antennenpigmentsysteme, die etwa 2% bis 5% der absorbierten Lichtintensität betrifft [Lichtenthaler und Rinderle, 1988]. Vernachlässigt werden hingegen Lumineszenzen, wie die verzögerte Fluoreszenz und die Phosphoreszenz, deren Beitrag zur Reemission im Vergleich zur prompten Fluoreszenz um Größenordnungen geringer ist [Hoff, 1986, Schmidt, 1988]. Für die In-vivo-Fluoreszenzemission¹ wird nach Falkowski und Kiefer [1985] ferner davon ausgegangen, daß die akzessorischen Pigmente kaum fluoreszieren, da Exzitonen dieser Pigmente fast vollständig und unumkehrbar auf Chl *a* übertragen werden. Mindestens 95% der In-vivo-Fluoreszenzemissionen entstehen bei physiologischen Temperaturen am PS II, was u.a. auf einen um den Faktor fünf langsameren Exzitonentransfer im Vergleich zu PS I zurückgeführt wird [Owens, 1991]. Daraus resultiert, wie im Anschluß kurz dargestellt, zum einen das Spektralverhalten und zum anderen die Kinetik der In-vivo-Fluoreszenzemission.

2.4.1 Spektralverhalten der Fluoreszenzemission

Maßgebliche Kenntnisse über die Fluoreszenzemission von Pigmenten gehen auf Untersuchungen von Stokes (19. Jh.) zurück, wonach das Fluoreszenzspektrum im Verlauf unabhängig von der Wellenlänge des Anregungslichts ist und gegenüber der langwelligsten Absorptionsbande langwellig verschoben auftritt [zitiert in Duysens, 1986].

Unter Bestrahlung mit aktinischem Licht fluoreszieren eukaryotische Algen im roten Spektralbereich. Das typische In-vivo-Fluoreszenzspektrum eukaryotischen Zellmaterials zeigt den Verlauf in Abb. 2.7. beispielhaft. Für monomeres Chl *a*, gelöst in Aceton, wird von Rowan [1989] der Peak der In-vitro-Fluoreszenz² bei einer Wellenlänge von 668 nm angegeben, wobei ähnlich wie bei dem in Abs. 2.2.1 beschriebenen Absorptionsverhalten von einer langwelligen Verschiebung für proteingebundene Chl-*a*-Moleküle ausgegangen wird. Algen des grünen Zweigs zeigen bei physiologischen Temperaturen einen Peak bei einer Wellenlänge von etwa 685 nm, Algen des braunen Zweigs hingegen geringfügig abweichend häufig bei etwa 681 nm [Govindjee und Satoh, 1986]. Begleitet wird dieser Peak von einer Nebenbande bei einer Wellenlänge von ungefähr 740 nm.

Eine Fluoreszenz im blauen bzw. grünen Spektralbereich entsteht durch Bestrahlung mit UV-Licht und wird, wie von Stober und Lichtenthaler [1992] beschrieben, zur Untersuchung terrestrischer Pflanzen genutzt, weniger bislang für Algen.

¹ *In vivo*: am lebenden Objekt (im Leben), wird in Bezug auf Fluoreszenz von Zellmaterial als Kennzeichnung der Beobachtung außerhalb des natürlichen Lebensraums verwendet, während *in situ*: an Ort und Stelle (in Lage), hingegen die Beobachtung innerhalb des natürlichen Lebensraums kennzeichnet.

² *In vitro*: unter künstlichen Bedingungen (im Glas), bezeichnet eine Beobachtung der Fluoreszenz an separierten Zellsubstanzen (z.B. extrahiertes Chl *a*).

(Anmerkung: Die genannten Kennzeichnungen lassen gelegentlich gewisse Unschärfen untereinander zu.)

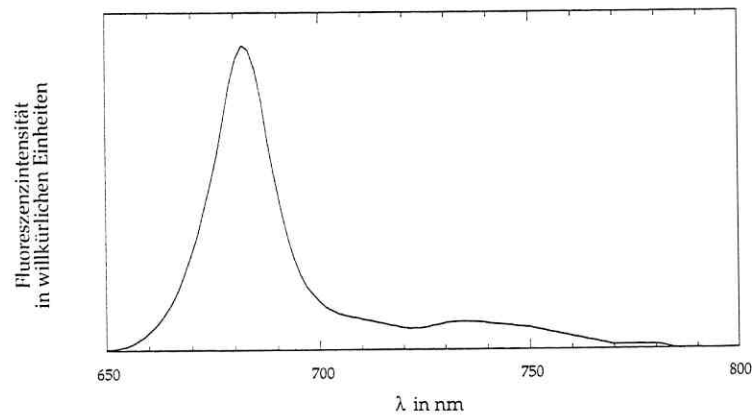


Abb. 2.7. Spektrale Fluoreszenzemission von Spinachchloroplasten bei einer Temperatur von 298°K [übernommen aus Murata und Satoh, 1986]. (Das Spektralverhalten der Fluoreszenz bei tiefen Temperaturen wird ebenda eingehend diskutiert.)

2.4.2 Kinetik der Fluoreszenzintensität

Wird dunkeladaptiertes Zellmaterial durch ein aktinisches Licht konstanter Intensität bestrahlt, läßt sich die Fluoreszenzinduktion, d.h. der sogenannte Kautsky-Effekt beobachten [zur Übersicht s. Lichtenthaler, 1992]. $F(t)$, die Intensität der spontanen Fluoreszenzemission in Abhängigkeit von der Zeit ergibt einen qualitativ charakteristischen Verlauf in Form eines schnellen Anstiegs auf ein Maximum, gefolgt von einem langsameren Abklingen übergehend in eine stationäre Phase. Es ist leicht vorstellbar, daß der Verlauf schwer zu interpretieren ist, wenn sich die einzelnen Redoxprozesse der Lichtreaktion überlagern und auf die Kinetik zurückwirken. Genau dieses ist jedoch der Fall, wie eingehender von Govindjee und Satoh [1986] sowie Krause und Weis [1991] beschrieben wurde.

Jede ermittelte Fluoreszenzinduktionskinetik spiegelt in einem gewissen Maß den momentanen Vitalitätszustand des untersuchten Zellmaterials wider. Einen weiteren wesentlichen Einfluß auf den Fluoreszenzintensitätsverlauf eines bestimmten Zellmaterials üben experimentelle Parameter aus, wie von Renger und Schreiber [1986] z.B. für die Anregungsintensität, die Temperatur und die Dunkeladaptionszeit dargestellt. Aufgrund dessen lassen sich nicht pauschal Zeiten für das Eintreten des Maximums bzw. der stationären Phase angeben.

Wegen der eingangs (Abs. 2.4) genannten Voraussetzung, daß die In-vivo-Fluoreszenz vom Chl *a* des PS II ausgeht und infolge der rückwirkenden Mechanismen der Ladungstrennung, dargelegt in Abs. 2.3.2, spielt der Funktionszustand des RC II hinsichtlich der Interpretation der Kinetik die entscheidende Rolle [s. auch Barber et al., 1989].

Nach einer Dunkeladaption wird davon ausgegangen, daß die Redoxkomponenten der PSU im Grundzustand vorliegen. RC II entspricht in diesem Fall dem Ausgangsterm der Gl. (2.7a), der gleichermaßen den 'offen' genannten, oxidierten Zustand des RC II bezeichnet. Die Mindestdauer der Dunkeladaption beträgt in der Regel etwa 10^3 s, die sich nach Büchel und Wilhelm [1993] in Abhängigkeit von der Spezies verändern und für einige Algenarten auch mehr als

verdoppeln kann. Nach dieser Zeit wird davon ausgegangen, daß Relaxationen und Rückreaktionen, die z.B. zur verzögerten Fluoreszenz führen, abgeschlossen sind und eine quasi reproduzierbare Ausgangssituation vorliegt.

Mit dem Einsetzen einer Bestrahlung durch aktinisches Licht konstanter Intensität breitet sich zunächst die absorbierte Energie innerhalb der Antennenpigmentsysteme der photosynthetischen Einheiten aus, wovon der schnelle Fluoreszenzintensitätsverlauf bis zum Erreichen einer Grundfluoreszenz F_0 bestimmt wird. F_0 selbst wird oft als die Fluoreszenzintensität angesehen, bei der ausschließlich offene RC II vorliegen, d.h. diese Zentren bereit sind, Exzitonen aus LHC II maximal zur Ladungstrennung gemäß den Gln. (2.7a-d) zu nutzen. Der Bezug zwischen den schnellen Prozessen im PS II und der Grundfluoreszenz unterliegt im Detail einer kontroversen Diskussion [s. Trissl et al. 1993].

Im Gegensatz zur Grundfluoreszenz F_0 wird für die Maximalfluoreszenz F_m davon ausgegangen, daß Q_A im reduzierten Zustand, entsprechend dem Reaktionsprodukt der Gl. (2.7d) vorliegt und weitere Ladungstrennungen nicht stabilisiert werden können. Die Exzitonen gelangen vom reduzierten (geschlossenen) RC II zurück zum LHC II, in welchem demzufolge die Exzitonendichte, d.h. die Anzahl der Anregungszustände des Chl *a* maximal zunimmt, womit sich die entsprechende Fluoreszenzintensität F_m einstellt. Für vitales Zellmaterial kann mittels des künstlichen Redoxsystems DCMU¹ die Q_B -Bindungsstelle des RC II blockiert werden, wodurch Q_A nach der ersten Ladungstrennung im reduzierten Zustand verbleibt und die Fluoreszenzintensität umgehend von F_0 auf einen stationären Wert F_m ansteigt, wie in Abb. 2.8 der gestrichelte Intensitätsverlauf mit der Markierung durch den Buchstaben m andeutet.

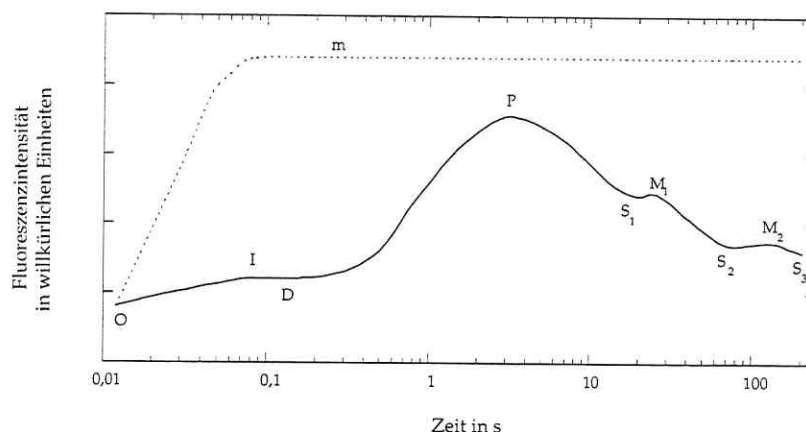


Abb. 2.8. Fluoreszenzinduktionskinetik dunkeladaptierter Spinatblätter (durchgezogene Kurve) angeregt durch blaues Licht mit 10 Wm^{-2} und detektiert im roten Spektralbereich [nach Kurven von Renger und Schreiber 1986]. Die charakteristischen Niveaus der Fluoreszenzintensität sind durch Buchstaben markiert: O, origin; I, intermediary; D, dip; P, peak; S_1 , S_2 , semi steady states; M_1 , M_2 , relative maxima; S_3 , terminal steady state. S_3 wird in der Literatur auch verschiedentlich als T benannt. Für den Fall der DCMU-Behandlung eukaryotischer Zellen wird ein typischer Verlauf der Fluoreszenzintensität angenommen (gestrichelte Kurve), wobei der Buchstabe m das absolute Maximalniveau der Fluoreszenzintensität kennzeichnet [s. Owens, 1991]. Die willkürlichen Einheiten wurden für beide Kurven gleich gewählt.

¹ DCMU bezeichnet 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-Dimethylharnstoff, landläufig als Pflanzengift 'Diuron' bekannt.

Der Intensitätsverlauf ab der Grundfluoreszenz F_0 zeigt verschiedene Niveaus des Kautsky-Effekts, wie für ein Beispiel in Abb. 2.8 anhand der durchgezogenen Kurve dargestellt. Die typischen Kurvenniveaus der Fluoreszenzintensität, gekennzeichnet durch O, I, D, P, S_1 , M_1 , S_2 , M_2 , S_3 , werden zum Teil auch als Indizes in der gleichrangigen Schreibweise der Fluoreszenzintensitäten F_0 , F_i , F_p benutzt, wobei das Endniveau S_3 dann als F_s bezeichnet wird [s. Briantais et al., 1986].

Vom Grundniveau (O) bis zum Peak (P) wird die Anstiegsphase der Kinetik (Abb. 2.8) vorwiegend allein vom Funktionszustand der RC II bestimmt, da sich diese Phase auch an ungekoppelten PS II zeigt [Briantais et al., 1986]. Es wird in Verbindung mit den Zwischenniveaus (I) und (D) davon ausgegangen, daß der Akzeptor Q_A gemäß Gl. (2.8a) oxidiert, reduziert und reoxidiert wird, bis die Kapazität des Plastochinonspeichers PQ maximal ausgenutzt ist. Die RC II sind dann innerhalb der Fluoreszenzinduktionskinetik maximal reduziert und es ergibt sich die Fluoreszenzintensität F_p . Für ungekoppelte PS II stellt sich $F_p \approx F_m$ ein, hingegen für vollständige photosynthetische Einheiten $F_p < F_m$ [Briantais et al., 1986]. Letzterer Fall entsprechend der Abb. 2.8, der selbstverständlich eine nicht sättigende Bestrahlungsintensität voraussetzt, geht auf die Kopplung des RC II mit RC I über den Cytochromkomplex zurück (s. Abs. 2.3.3). Die Lichtreaktion des RC I sorgt letztendlich für die Reoxidation des reduzierten PQ am Cytochromkomplex. Da diese Reoxidation gemäß Gl. (2.8c) jedoch den limitierenden Schritt im Elektronentransport kennzeichnet [z.B. Genty und Harbinson, 1996], wird eine Art vorübergehender Elektronenstau am RC II, d.h. ein größtmöglicher Reduktionsgrad des Akzeptors Q_A verursacht, der zu F_p vollständiger photosynthetischer Einheiten führt.

Die Verminderung der Fluoreszenzintensität vom Peak (P) kann wie in Abb. 2.8 über die Unterniveaus (S_1 , S_2) und (M_1 , M_2) verlaufen, deren Auftreten bzw. Ausprägung vom physiologischen Zustand des Zellmaterials abhängig ist [Lichtenthaler und Rinderle, 1988]. Mit dem Gleichgewichtswert F_s endet die Abnahme der Fluoreszenzintensität in der stationären Phase (S_3), wobei $F_s > F_0$, da unter fortdauernder Belichtung stets mit einem gewissen Reduktionsgrad des Akzeptors Q_A gerechnet werden muß. Das erste Abklingen der Fluoreszenzintensität vom Peak (P) zum ersten Semigleichgewichtszustand (S_1), welches die fortschreitende Reoxidation des reduzierten Akzeptors Q_A anzeigt, wird nach Lichtenthaler und Rinderle [1988] u.a. hauptsächlich auf den Aufbau des Protonengradienten über der Thylakoidmembran zurückgeführt. Als Folge einer vorübergehenden Unausgewogenheit zwischen dem Elektronenverbrauch der Dunkelreaktion und der Elektronenlieferung der Lichtreaktion wird schließlich der weitere Kinetikverlauf über mögliche Zwischenmaxima (M_1 , M_2) bis zum stationären Gleichgewicht (S_3) angesehen [Büchel und Wilhelm, 1993]. Zudem wird das Abklingverhalten durch die in Abs. 2.3.2 angeführten dynamischen Heterogenitäten der Photosysteme beeinflusst.

Die äußerste Intensitätsspannweite der Fluoreszenzinduktion ist als maximale variable Fluoreszenz (F_v) definiert:

$$F_v = F_m - F_0 \quad (2.9).$$

F_v enthält wie $F(t)$ generell Informationen zum photochemischen Energietransport dunkel-adaptierter Algen, die sich jedoch einer direkten Bewertung entziehen. Deshalb wurden verschiedene Methoden zur Abschätzung physiologisch relevanter Parameter entwickelt [zur Übersicht s. Lichtenthaler, 1988b]. Es wird z.B. das Verhältnis der Fluoreszenzverminderung:

$$Rfd = (F_p - F_s) / F_s \quad (2.10)$$

als Vitalitätsindex angegeben.

Besonders die Analyse der Fluoreszenzlöschung, die sich mittels 'Puls-Amplituden-Modulations' Meßtechnik vornehmen läßt [s. Schreiber et al., 1986], wird als Methode zur Untersuchung der photosynthetischen Lichtreaktion zunehmend genutzt. Hierbei ermöglicht eine Bemessung der photochemischen und nichtphotochemischen Löschung der Fluoreszenzintensität anhand spezieller Koeffizienten weitergehende Aussagen zum physiologischen Zustand der Zellen [zur Übersicht s. Büchel und Wilhelm, 1993].

Allen Fluoreszenzbetrachtungen liegt unabhängig von der Meßtechnik zugrunde, daß sich die Fluoreszenzintensität F unter physiologischen Temperaturen als Produkt aus der Rate der Lichtabsorption J_{all} und der Fluoreszenzausbeute Φ_F des PS II ergibt:

$$F = J_{all} \Phi_F \quad (2.11).$$

Die Fluoreszenzausbeute läßt sich, wie von Butler und Kitajima [1975] gezeigt, durch den Funktionszustand des RC II und durch Ratenkonstanten, die dem Energietransport entsprechen, beschreiben. Anhand geeigneter Reaktionsmuster ergeben sich ferner gekoppelte Differentialgleichungssysteme, die eine quantitative Teilanalyse der Fluoreszenzintensität $F(t)$ ermöglichen [z.B. Renger und Schulze, 1985; Christoffers, 1987].

Im Fortgang der Arbeit liegt der Schwerpunkt auf einer derartigen quantitativen Teilanalyse des Signals $F(t)$ unterschiedlich vorbehandelter Algen, wobei zunächst experimentelle Befunde einschließlich optischer Untersuchungen dargelegt werden.

3. Experimentelle Befunde

Gegenstand der experimentellen Untersuchungen waren verschiedene eukaryotische Algenspezies des grünen und des braunen Zweigs (s. Abs. 2.2), die beispielsweise auch in einheimischen Fließgewässern vorkommen [Karrasch und Baborowski, 1996]. Neben reinen Kulturen, denen sich die Folgeabschnitte widmen, wurde im Rahmen von Felduntersuchungen auch eine Algenpopulation natürlicher Herkunft analysiert, wie weiter unten im Abs. 3.5 für Gewässerproben aus dem Fluß Elbe geschildert. Dabei gingen den zentralen kinetischen Messungen der Fluoreszenzintensität verschiedene Untersuchungen zur optischen Beschaffenheit der Algenproben voraus.

3. 1 Algenkulturen

Die Ausgangszellen stammen aus der Sammlung von Algenkulturen des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen (SAG). Sie wurden in den von Schlösser [1982] empfohlenen Nährlösungen¹ in transparenten Schottglasflaschen unter ständiger Bestrahlung ($I = 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durch weißes Neonlicht² bei Raumtemperatur ($T \approx 23^\circ\text{C}$) im Labor angelegt. Ihre Vermehrung nach Einbringen weniger Algenstammzellen in die angezeigten Nährlösungen ließ sich visuell bereits nach Tagen durch eine zunehmende Attenuation³ beobachten. Zu folgenden Kulturen werden im Anschluß Untersuchungsergebnisse vorgestellt:

- *Scenedesmus acuminatus*: G-Sc,
- *Chlorella vulgaris*: G-Ch,
- *Cyclotella meneghiniana*: B-Cy,

wobei die angegebenen Abkürzungen *G* und *B*, die die Zugehörigkeit der Algen zum grünen bzw. braunen Zweig vermerken, fortlaufend zur Bezeichnung entsprechender Proben benutzt werden.

Größenmäßig zählen die ausgewählten Kulturen zum Nanoplankton (s. Abs. 2.3.1) und waren in der äußeren Gestalt bohnen- bis kugelförmig bzw. flach zylindrisch geformt. Die Algen lagen vorwiegend als Einzelzellen mit nur vereinzeltem Ansatz zur Koloniebildung vor. Wie zeitabhängige Messungen der Attenuation weiter unten (Abb. 3.3) noch belegen, setzten sich die genannten Algen unter den angeführten Laborbedingungen ohne Bewegung im Laufe der Zeit durch ihr passives Schwebeverhalten am Boden der Flaschen ab, wodurch eine unerwünschte Gefügebildung verstärkt eintreten kann. Um eine derartige Sedimentation zu vermindern, wurden die Flaschen täglich geschüttelt.

¹ Für die Spezies des grünen Zweigs wurde 'Basal Medium' und für die des braunen Zweigs 'Bacillariophycean Medium' laut der jeweils angegebenen Rezeptur hergestellt.

² Das entsprechende Spektrum der Bestrahlungsintensität $I(\lambda)$ ist im Anhang, Abb. 8.1 angegeben.

³ Der Begriff der Attenuation wird in der Limnologie anstelle von Extinktion verwendet und beschreibt demzufolge die Verminderung der Lichtdurchlässigkeit aufgrund von Streuungs- und Absorptionsvorgängen innerhalb einer Probe (s. auch Abs. 3.3).

3.2 Chlorophyll-*a*-Konzentration

Zur näheren Charakterisierung der Proben wurde in der Regel der Chl-*a*-Gehalt auf dem Weg der Extraktionsmethode mit anschließender fluorometrischer Vermessung in Anlehnung an Welschmeyer [1994] bestimmt. Extrahiert wurde, indem zuerst die Abfiltration der partikulären Bestandteile aus einer festgelegten Teilmenge der Probe bei schwachem Unterdruck ($\Delta p \leq 0,2$ bar) auf Glasfaserfilter¹ erfolgte und danach die Filter samt Filtrationsrückstand gekühlt ($T \approx -20^\circ\text{C}$) in Lösungsmittel (Ethanol, 90%-ig) mindestens einen Tag lang lichtgeschützt verwahrt wurden. Das dieserart in Lösung gegangene Chl *a* ließ sich nun fluorometrisch unter Bezug auf einen handelsüblichen und selbstverständlich in gleicher Weise gelösten Standard² quantifizieren. Die Kalibrierung des Meßgerätes, eines Turnerfluorometers³, ergab einen linearen Zusammenhang⁴ zwischen Chl-*a*-Konzentration und Fluoreszenzintensität über drei Größenordnungen. So wurde die Vermehrung der Algenkulturen durch Bestimmungen der Chl-*a*-Konzentrationen begleitet (Abb. 3.1).

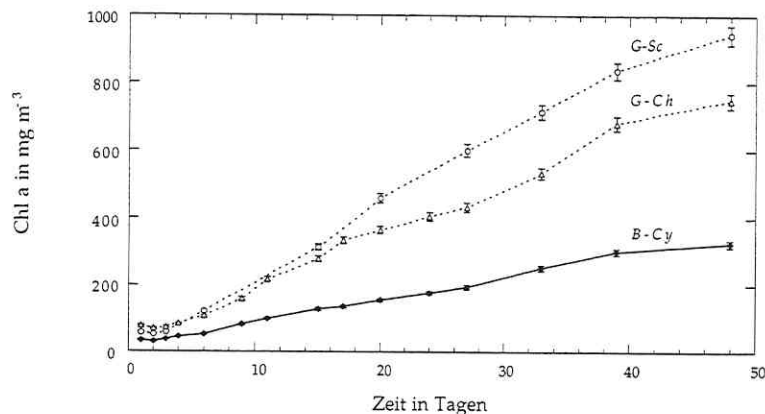


Abb. 3.1. Zunahme des Chl-*a*-Gehaltes von drei verschiedenen Algenkulturen nach Einbringen in die Nährlösungen unter den genannten Laborbedingungen. Die prozentuale Fehlerangabe der Bestimmungsmethode von $\pm 3\%$ geht auf eine gesondert durchgeführte Untersuchung der Standardabweichung⁵ im Feld zurück.

Auf Probleme der Bestimmung der Pigmentkonzentration sowohl in vivo als auch in vitro, die hauptsächlich aus der spektralen Überlagerung der verschiedenartigen Pigmente herrühren, wird in der Literatur durch z.B. Gieskes [1991] ausführlich eingegangen. Diesbezüglich ließ sich die w.o. beschriebene Methode, hier ausschließlich zur Bestimmung der Chl-*a*-Konzentration benutzt, durch methodisch unabhängige Paralleluntersuchungen⁶ an zahlreichen Proben

¹ Typ Wathmann GF/F (nominelle Porenweite: $0,7 \mu\text{m}$)

² Chl-*a*-Standard gewonnen aus *Anacystis nidulans*; Sigma-Aldrich Inc.

³ Turnerfluorometer vom Typ 10-AU-005; GAT GmbH, Bremerhaven. Durch die Verwendung von Interferenzfiltern wurde die Meßempfindlichkeit des Fluorometers möglichst genau auf die Spektraleigenschaften des gelösten Chl *a* abgestimmt, wie im Anhang, Abb. 8.3 gezeigt.

⁴ Darstellung: s. Anhang, Abb. 8.5

⁵ Darstellung: s. Anhang, Abb. 8.7

⁶ Darstellung: s. Anhang, Abb. 8.6

der verschiedenen Spezies und Proben aus dem Feld gut absichern. Selbst wenn sich die Biomasse der Algen bzw. die Menge des photoautotrophen Materials nur grob aus der Chl-*a*-Konzentration einer Probe abschätzen läßt¹, wird diese Konzentration, die in allen eukaryotischen Algenspezies typisch vorkommt und verhältnismäßig einfach bestimmbar ist, häufig als ein Maß der Algenbiomasse zur Normierung weiterer Parameter benutzt [Geider und Osborne, 1992]. Demgemäß lassen sich die über die Zeit anwachsenden Chl-*a*-Konzentrationen, dargestellt in Abb. 3.1, als Zunahme der Algenbiomassen in den Proben verstehen. Die in Tab. 3.1 angeführten Konzentrationen lagen speziell zum Zeitpunkt der nachfolgend dargelegten Untersuchungen vor und finden insbesondere als Normierungsgröße Verwendung.

Probe	Chl <i>a</i> in mg m ⁻³	mol. Konz. in µmol m ⁻³
<i>G-Sc</i>	2350±70	2630±78
<i>G-Ch</i>	1760±50	1970±56
<i>B-Cy</i>	540±10	604±11

Tab. 3.1. Chl-*a*-Gehalte der angelegten Algenkulturen zum Zeitpunkt der in Abs. 3.3 und Abs. 3.4 dargelegten Untersuchungen (Fehlerangaben wie in Abb. 3.1 angegeben). Die molaren Konzentrationen, die speziell im Abs. 5 herangezogen werden, ergeben sich aus der Division der Chl-*a*-Konzentrationen durch die molare Masse des Chl *a*, also durch 893,5 g mol⁻¹.

3.3 Spektral auflösende Untersuchungen

Um die konkreten Spektraleigenschaften der angelegten Algenkulturen zu veranschaulichen, wurden entsprechend auflösende Untersuchungen an den Proben durchgeführt. Neben einer qualitativen Bewertung liefern diese Ergebnisse im Abs. 5 ferner einen Beitrag zur Abschätzung der Rate der Lichtabsorption J_a nach Gl. (2.5).

Die Messungen an den Algenproben wurden mit Hilfe eines Simultan-Spektrometers² durchgeführt, welches bei einer optischen Auflösung von 2,4 nm und einer mittleren Meßzeit von 10 ms einen Wellenlängenbereich $360 \text{ nm} \leq \lambda \leq 780 \text{ nm}$ erfaßte. Als Lichtquelle dienten eine Halogenleuchte³ für Transmissionsmessungen und eine Xenonleuchte⁴ für Untersuchungen der Fluoreszenz. Ausgelegt auf das Meßvorhaben wurden das Spektrometer und die jeweilige Lichtquelle optisch mit dem Meßobjekt durch Lichtleiter und dazugehörige Ein- und Auskopplungsoptiken miteinander verbunden.

¹ Geider und Osborne [1992] verweisen auf ein Verhältnis von 0,1% bis 5% des Chl-*a*-Gehalts zum spezifischen Trockengewicht der Algenbiomasse. Falkowski und Raven [1997] geben 0,05% bis 0,1% für das massenspezifische Verhältnis von Chlorophyll zu organischem Kohlenstoff in Algen an. Grund für diese Schwankungsbreiten ist die Anpassung des Zellstoffwechsels an Temperatur-, Bestrahlungs- und Nährstoffverhältnisse, wodurch sich spezifische Zellstrukturen, wie u.a. auch zellspezifische Chl-*a*-Gehalte, ausbilden.

² Typ MCS310; Carl Zeiss Jena GmbH, Jena. Das Gerät basiert auf einer Photodiodenzeile (512 Elemente), einem Eintrittsspalt (0,05x0,25 mm²), einem holographischem Konkavgitter sowie einer Auswertungseinheit.

³ Typ CLH 111 (50 W); Carl Zeiss Jena GmbH, Jena.

⁴ Typ CLX 111 (75 W); Carl Zeiss Jena GmbH, Jena.

Zu jeder Messung einer Intensität I_M mit dem Simultan-Spektrometer wurde grundsätzlich der aktuelle Dunkelstrom I_D der Photodiodenzeile bestimmt, so daß entsprechend mit Intensitäten $I = I_M - I_D$ gearbeitet wurde.

Indem ein Parallelstrahlbündel durch eine Küvette geschickt wurde, erfolgte die Messung der durchgelassenen Intensitäten I_0 am Referenzmedium (aq. dest.) und I_1 an der Probe, woraus sich die Transmission $T = 100 I_1 / I_0$ in % bzw. die optische Dichte $OD = 2 - \lg T$ ableitet. Wird das Lambert-Beersche Gesetz:

$$I_1 = I_0 e^{-cz} \quad (3.1)$$

zugrunde gelegt, kann für eine Schichtdicke z der Attenuationskoeffizient c angegeben werden, der sich seinerseits aus dem Absorptionskoeffizienten a und dem Streukoeffizienten b gemäß:

$$c = a + b \quad (3.2)$$

zusammensetzt, wie von Kirk [1994] für die aquatische Optik ausführlich diskutiert. Der Attenuationskoeffizient wurde für die Proben in einer Küvette mit $z = 0,01$ m bestimmt (Abb. 3.2). Maßgeblich geht c der Proben dabei auf die optischen Eigenschaften der Algen zurück und im geringeren Maße auf die der übrigen Inhaltsstoffe¹.

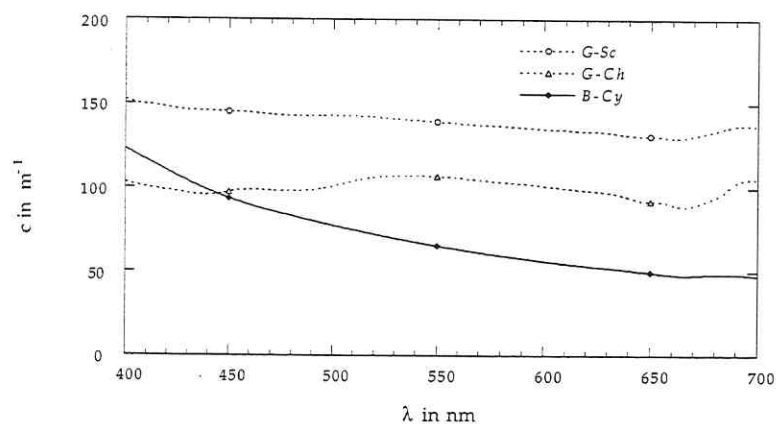


Abb. 3.2. Attenuationskoeffizient c abhängig von der Wellenlänge für die verschiedenen Algenkulturen.

Bei wiederholten Messungen an den nicht bewegten Proben wurde jeweils eine Verminderung des Attenuationskoeffizienten über der Zeit beobachtet (Abb. 3.3), die sich mit dem in Abs. 3.1. angeführten Sedimentationsverhalten erklären läßt. Dieser Beobachtung wurde in sämtlichen In-vivo-Untersuchungen dadurch Rechnung getragen, daß Messungen an den Proben stets nach einer gleichbleibenden Standzeit t_s der Meßküvette durchgeführt wurden. Die Zeitdauer wurde dabei besonders unter dem Aspekt der Fluoreszenzuntersuchungen an Algen und der damit verbundenen Mindestdauer der Dunkeladaption, dargelegt in Abs. 2.3.2, mit $t_s = 20$ min festgesetzt.

¹ Die Nährlösungen selbst liefern bereits einen gewissen Beitrag zur Attenuation der Proben (Anhang, Abb. 8.8).

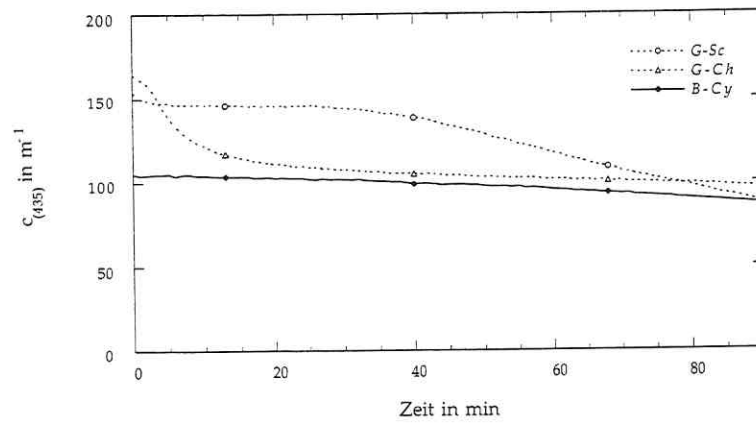


Abb. 3.3. Attenuationskoeffizient c einer repräsentativen Wellenlänge von $\lambda = 435$ nm in Abhängigkeit von der Zeit für die verschiedenen Algenkulturen.

Der Absorptionskoeffizient läßt sich, wie in der Literatur z.B. von Geider und Osborne [1992] angegeben, methodisch verschieden unter der Voraussetzung bestimmen, daß das gesamte Streulicht mit erfaßt wird. Eine derartige Messung von a , bei der dann $b \approx 0$ laut Gl. (3.2) gelten muß, wurde annäherungsweise durch den Einsatz eines Glasfaserfilters¹ als Diffusor am Eingang des Simultan-Spektrometers realisiert. Dazu wurden die partikulären Bestandteile aus einer festgelegten Teilmenge der Proben bei schwachem Unterdruck ($\Delta p \leq 0,2$ bar) auf das Glasfaserfilter in Form einer dünnen Filterschicht mit einem Durchmesser d_s konzentriert und I_1 gemessen. Entsprechend dem Ausgangsvolumen der Probenmenge ergibt sich eine zugehörige Schichtdicke z gleich der Höhe eines Zylinders mit d_s . An entsprechenden Filterschichten der reinen Nährlösungen wurden die Referenzmessungen von I_0 vorgenommen. Nach Gl. (3.1) konnten damit die in Abb. 3.4 dargestellten Koeffizienten ermittelt werden.

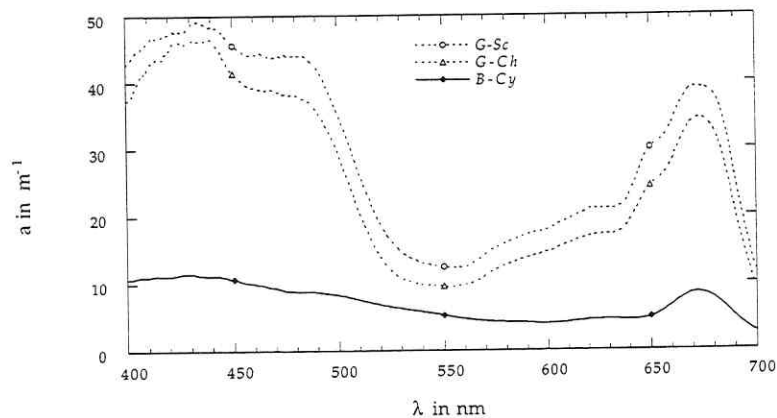


Abb. 3.4. Absorptionskoeffizienten der Algenkulturen. Der spezifische Absorptionskoeffizient a^* ergibt sich unter Bezug auf die Chl- a -Gehalte in Tab. 3.1 (dargestellt im Anhang, Abb. 8.9).

¹ Verwendet wurden Filter vom Typ Wathmann GF/F, wie bei der Extraktion von Chl a (Abs. 3.2). Die entsprechende Methode wird von Mitchell [1990] beschrieben und auch als quantitative Filtertechnik (QTF) bezeichnet.

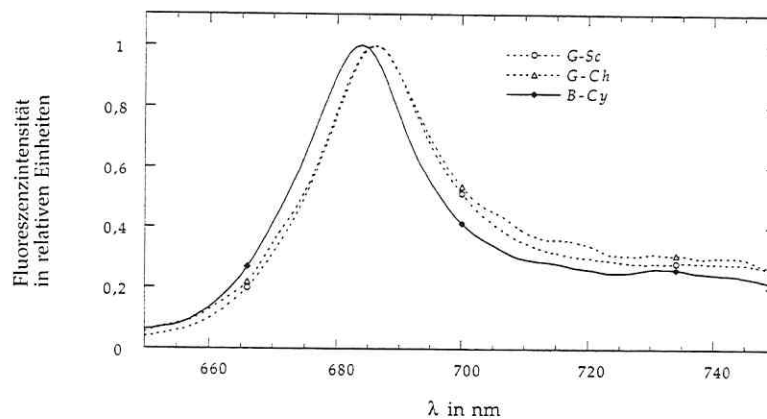


Abb. 3.5. Fluoreszenzintensitäten in Abhängigkeit von der Wellenlänge für die verschiedenen Algenkulturen, normiert auf den jeweiligen Maximalwert.

Schließlich wurde die Fluoreszenzintensität der verschiedenen Algenkulturen spektral aufgelöst untersucht. Zu diesem Zweck erfolgte mit Hilfe eines LI-COR-Spektorradiometers¹ eine Kalibrierung des Simultan-Spektrometers. Damit wurde nun die Fluoreszenzintensität an einer vom Umgebungslicht abgeschirmten Probe im Winkel von 90° zur eingestrahlten Anregungsintensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge gemessen. Diese Anregungsintensität² ging von einer Xenonleuchte aus und war maximal im blauen Spektralbereich ($I = 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Ähnlich wie von Govindjee und Satoh [1986] angegeben, ließ sich eine schwache spektrale Verschiebung der In-vivo-Fluoreszenzmaxima $\Delta\lambda(F_{\text{max}})$ zwischen Algen des grünen Zweigs mit $\lambda(F_{\text{max}}) = 686 \text{ nm}$ und des braunen Zweigs mit $\lambda(F_{\text{max}}) = 683 \text{ nm}$ beobachten (Abb. 3.5). Diese Verschiebung $\Delta\lambda(F_{\text{max}})$ spielt jedoch für die anschließend dargelegten Untersuchungen der Fluoreszenzintensität $F(t)$ keine Rolle. $F(t)$ wurde spektral summiert für $\lambda > 650 \text{ nm}$ erfaßt. Hierbei ist kein Unterschied im zeitlichen Verlauf zwischen spektral summierten Fluoreszenzintensitäten und Intensitäten, die bei der Wellenlänge des Fluoreszenzmaximums gemessen werden, zu erwarten (s. Abs. 2.4 bzw. zusätzlich experimentell bestätigt im Anhang, Abb. 8.10 und 8.11).

3.4 Kinetische Messungen der Fluoreszenzintensität

Kinetiken der Fluoreszenzintensität reflektieren in ihrer Verlaufsform den physiologischen Zustand von Zellen und reagieren in starkem Maße auf experimentelle Bedingungen. Während ersteres unabänderlich ist, wurde versucht letzterem durch möglichst genau festgelegte Untersuchungsverhältnisse zu begegnen. So wurden die Proben prinzipiell in einer streng festgelegten Meßanordnung mit stabilisierter Anregung bei gleichbleibender Raumtemperatur ($T = 23^\circ\text{C}$) nach einheitlichen Vorbehandlungen untersucht.

¹ LI 1800; Waltz-GmbH, Effeltrich.

² Identisch mit der im Anhang, Abb. 8.4 spektral dargestellten Anregung.

Zur Messung der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der Zeit $F(t)$ fand ein Photomultiplier¹ als Detektor Verwendung. Die Empfindlichkeit der Meßanordnung war durch den Einsatz eines Farbfilter (RG665) im roten Spektralbereich maximal (Anhang, Abb. 8.4). Als Lichtquelle für die Anregung diente eine Xenonleuchte². Mittels zweier Farbfilter (FF5-60 und KF505) wurde die Anregungsintensität auf den blauen Spektralbereich eingeschränkt (Anhang, Abb. 8.4). In einer vom Umgebungslicht abgeschirmten Küvette befand sich die Probe, an der gekoppelt über Lichtleiter und dazugehörige Optiken die Messung von $F(t)$ im rechten Winkel zur Anregung erfolgte. Der gewählte Winkel sollte keine meßspezifische Einschränkung mit sich bringen, da an den Algen des Nanoplanktons unter Bezug auf Untersuchungen von Gordon et al. [1993] von nahezu einer Isotropie der Fluoreszenzemission ausgegangen werden kann.

PerAnalog-Digital-Wandlerkarte³ wurde die Fluoreszenzemission als verstärktes Meßsignal des Photomultipliers mit einem Rechner bei einer zeitlichen Auflösung von 0,025 s erfaßt. Der durch einen Verschuß an der Xenonleuchte gesteuerte Einschaltvorgang der Anregung dauerte zuverlässig weniger als 0,03 s, so daß die Meßsignale $F(t)$ mit Sicherheit für $t \geq 0,055$ s als unabhängig vom Schaltvorgang gelten können (Anhang Abb. 8.12). Unter diesen Voraussetzungen belief sich die Standardabweichung der Werte $F(t)$ für $0,05 \text{ s} \leq t \leq 0,5 \text{ s}$ bezüglich eines konstant fluoreszierenden Standards auf 0,2% (Anhang Abb. 8.13).

Die auf eine Probe treffende Intensität, verwendet zur Anregung der Fluoreszenzemission bei der Messung von $F(t)$, wird fortan mit I_{A0} bezeichnet und betrug, wenn nicht anders vermerkt, stets $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Optisch war I_{A0} sowohl spektral als auch geometrisch völlig gleich der Vorbelichtungsintensität I_{V0} , mit der eine Probe im Fall der Helladaption vorbehandelt wurde. Beide Intensitäten, I_{A0} und I_{V0} , die mit ein und derselben Optik eingestrahlt wurden, gingen von der oben erwähnten Xenonleuchte aus. Über eine interne Graufiltertrommel dieser Xenonleuchte war es möglich, die Intensitäten zu verändern. Da der Übergang zwischen Vorbelichtung und Anregungsmeßlicht aus einer Lichtquelle mit $I_{A0} \neq I_{V0}$ nicht abrupt schaltbar war, d.h. mit unscharfen Anfangsbedingungen verbunden gewesen wäre, wurde eine Übergangsphase der Zeit t_i eingeführt. In dieser Phase, festgelegt als intermediäre Dunkeladaption mit $I_{V0} = I_{A0} = 0$ sowie $t_i \approx 1 \text{ s}$ zwischen Vorbehandlung und Messung, ließen sich nunmehr die Intensitäten unproblematisch einstellen, ohne daß die Wirkung der Vorbehandlung auf die Proben verloren ging, wie weiter unten noch am Beispiel gezeigt wird. Darüber hinaus wird sich die Einführung der intermediären Dunkeladaption noch bei der Formulierung der Anfangsbedingungen des im Abs. 4.3 vorgestellten Modells vorteilhaft nutzen lassen.

Mit der systematischen Vorbehandlung der Proben, die neben dem eigentlichen Meßprozeß zur Untersuchung der Kinetik der Fluoreszenzintensität von Zellmaterial gehört, werden festgelegte Ausgangssituationen hergestellt. Indem die Redoxkomponenten der photosynthetischen Einheiten durch äußere Einflüsse bestimmte Reaktionszustände einnehmen, adaptiert letztlich das Zellmaterial (s. Abs. 2.4.2). Dem Beginn der gezielten Adaption des Zellmaterials ging einzig der in Abs. 3.1 geschilderte Aufwuchs unter ständiger Bestrahlung im Labor voraus. Es wird davon ausgegangen, daß sich innerhalb einiger Stunden, die zur Messung verschiedener Kinetiken einer Algenspezies benötigt wurden, die Ausgangsgesamtheiten kaum veränderten.

¹ Typ 7734; L.O.T.-Oriel GmbH, Darmstadt. Die Meßeinrichtung war mit einer Spannungsversorgung und einem Meßverstärker des gleichen Herstellers ausgestattet.

² Typ CLX 111 (75 W); Carl Zeiss Jena GmbH, Jena. In dieser Beleuchtungseinheit waren intern ein Verschuß und eine Graufiltertrommel einbegriffen.

³ Typ DASCard-1000; Keithley Instruments GmbH, Germering.

Damit haben die verschieden adaptierten Proben einer Spezies, die jeweils der Ausgangsgesamtheit entnommen wurden, nahezu einen Ursprung.

Die gewählte Adaptionszeit t_a belief sich auf 20 min und entsprach somit der in Abs. 3.3 festgelegten Standzeit der Proben t_s mit $t_s = t_a$, was bedeutet, daß eine Probe mit dem Einbringen der Meßküvette in der Untersuchungsanordnung adaptiv vorbehandelt wurde. Folgende Adaptionen werden unterschieden:

- tox. - toxisch mit DCMU behandelt¹, d.h., der Ladungsabfluß aus dem PS II sollte blockiert sein, so daß sich unmittelbar der stationäre Wert der Maximalfluoreszenz F_m einstellt;
- dkl. - dunkeladaptiert, d.h., die Redoxkomponenten der Photosysteme sollten nach t_a mit $I_{V0} = 0$ im Grundzustand vorliegen, wodurch der Kautsky-Effekt zu beobachten ist, also $F(t)$ zunächst auf den Spitzenwert F_p ansteigt und dann auf den Gleichgewichtswert F_s abfällt;
- hell - helladaptiert, d.h., die Redoxkomponenten der Photosysteme sollten nach t_a mit $I_{V0} > 0$ mindestens zu einem Teil nicht im Grundzustand vorliegen, so daß $F(t)$ je nach Vorbelichtungsgrad einen spezifischen Verlauf zeigt, bevor sich der Gleichgewichtswert F_s einstellt. Dabei lag eine weitere Untergliederung des helladaptierten Zustands wie folgt nahe:
hell_n mit $0 < I_{V0} < I_{A0}$, hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$ und hell_h mit $I_{V0} > I_{A0}$.

Nachstehend sind in Abb. 3.6 bis Abb. 3.8 die Kinetiken $F(t)$ dreier Algenspezies dargestellt, deren Proben jeweils, wie oben angegeben, verschiedene Adaptionen voraus gingen. Die Werte der Fluoreszenzintensität wurden jeweils auf die Mittelwerte der Maximalfluoreszenz F_m der toxisch behandelten Proben normiert.

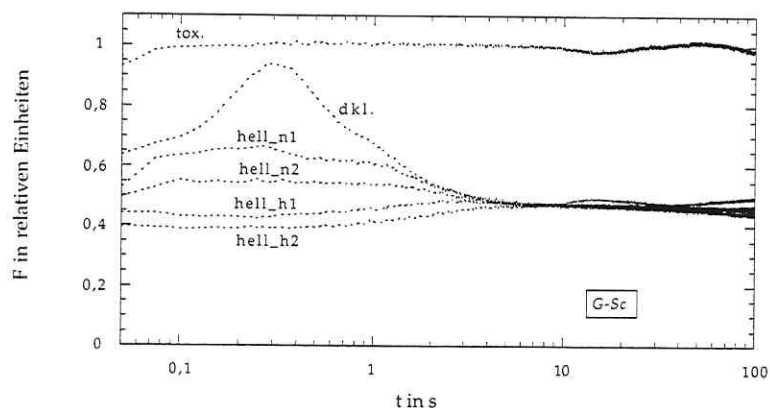


Abb. 3.6. Fluoreszenzintensitäten $F(t)$ der Spezies *Scenedesmus acuminatus* des grünen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaptation und vier verschiedener Helladaptionen. Die Helladaptionen beziehen sich auf: hell_n1 mit $I_{V0} = I_{A0} / 4$, hell_n2 mit $I_{V0} = I_{A0} / 2$ sowie hell_h1 mit $I_{V0} = 3 I_{A0} / 2$ und hell_h2 mit $I_{V0} = 2 I_{A0}$.

¹ Die toxische Behandlung erfolgte in Form einer Zugabe von 0,05 ml gesättigter DCMU-Lösung auf 5 ml der Probe. Da diese Probe ansonsten gleich der dunkeladaptierten Probe behandelt wurde, bestätigt allein der quasi invariable Wert F_m mit $F_m > F_p$ die Wirksamkeit der Behandlung. (Der Verdünnungsgrad dieser Proben wurde selbstverständlich mit den Werten der Fluoreszenzintensität verrechnet.)

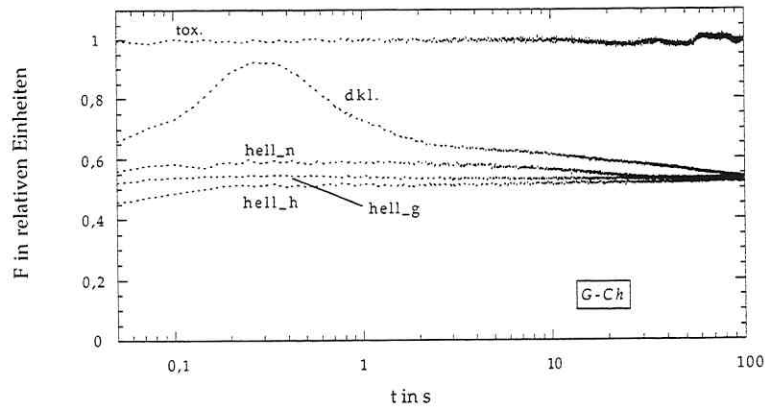


Abb. 3.7. Fluoreszenzintensitäten $F(t)$ der Spezies *Chlorella vulgaris* des grünen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaptation und drei verschiedener Helladaptation. Die Helladaptation beziehen sich auf: hell_n mit $I_{V0} = I_{A0} / 2$, hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$ sowie hell_h mit $I_{V0} = 2 I_{A0}$.

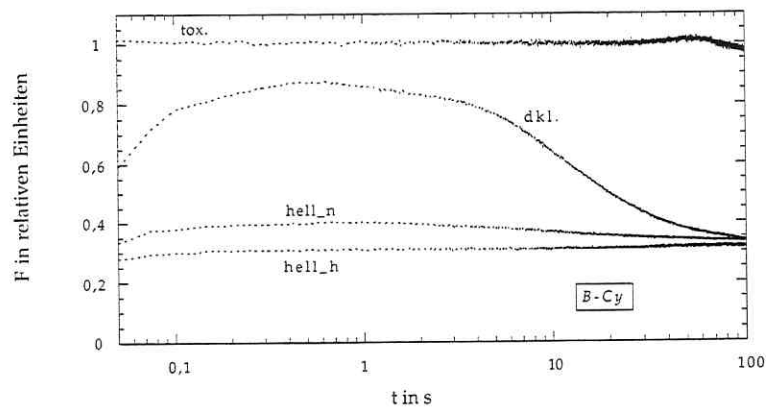


Abb. 3.8. Fluoreszenzintensitäten $F(t)$ der Spezies *Cyclotella meneghiniana* des braunen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaptation und zwei verschiedener Helladaptation. Die Helladaptation beziehen sich auf: hell_n mit $I_{V0} = I_{A0} / 2$ sowie hell_h mit $I_{V0} = 2 I_{A0}$.

Bei sämtlichen Messungen von $F(t)$ lag der intermediären Dunkelzeit t_i zufolge $F(0) = 0$ vor. Gemäß der Probenvorbehandlung zeigen die Kurven in Abb. 3.6 bis Abb. 3.8 markante Verlaufsformen, denen sich eindeutig Adaptionszustände der Zellgesamtheiten zuordnen lassen und die qualitativ mit Literaturangaben verträglich sind [s. z.B. Lichtenthaler und Rinderle, 1988]. Wie weiter oben vorausgesetzt, wird anhand der Kinetiken der helladaptierten Proben deutlich, daß der Einfluß der Vorbehandlung durch die intermediäre Dunkeladaptation mit t_i keinesfalls aufgehoben wird. Besonders durch den Fall der Helladaptation hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$ in Abb. 3.7 wird die fast unverminderte Wirkung der Vorbehandlung deutlich, da der Verlauf unmittelbar in den Gleichgewichtswert F_s einmündet, d.h. in den Wert, der auch zum Ende der Adaption vorgelegen haben muß. In der Tab. 3.2 werden schließlich typische Parameter aus den Kinetiken der dunkeladaptierten Proben angeführt, die letztendlich auch bei einer Anfitung der Kurven unter Verwendung eines Modells berücksichtigt werden müssen.

Probe	Rfd	t_p in s
G-Sc	0,97	0,3
G-Ch	0,74	0,3
B-Cy	1,58	0,5

Tab. 3.2. Werte des Rfd gemäß Gl. (2.10) und der zu F_p gehörenden Zeit t_p , resultierend aus den Kinetiken der Fluoreszenzintensität der dunkeladaptierten Proben.

Prinzipiell lassen sich die Werte des Rfd gemäß Gl. (2.10) auch im Fall der Helladaption $hell_n$, d.h. wie oben festgelegt bei $0 < I_{V0} < I_{A0}$, für untersuchte Proben angeben. Erst mit $I_{V0} = I_{A0}$ ($hell_g$) nimmt Rfd den Wert null an, wie in Abb. 3.7 mit $F_p \approx F_s$ für die Adaption $hell_g$ zu erkennen ist. Wesentlich wird dabei später im Abs. 5 sein, ausgehend von der Modellierung der Kinetiken der toxischen Behandlung und der Dunkeladaption, zwangsläufig auf die übrigen Kinetiken durch gegebene Anfangsbedingungen schließen zu können.

Erweitert wurden die experimentellen Untersuchungen durch Messungen der Kinetiken für verschiedene I_{A0} (Abb. 3.9) und unterschiedliche t_i (Abb. 3.10).

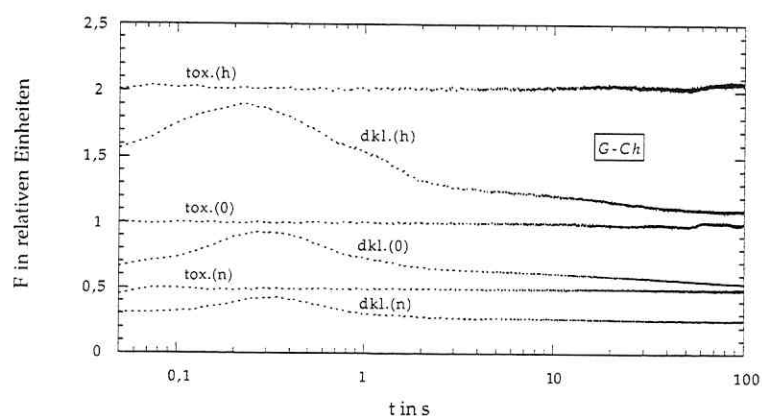


Abb. 3.9. Fluoreszenzintensitäten $F(t)$ der Spezies *Chlorella vulgaris* des grünen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung und der Dunkeladaption bei verschiedenen Intensitäten I_{A0} . Den Kurven entsprechen Messungen markiert durch (h): $I_{A0} = 40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, (0): $I_{A0} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und (n): $I_{A0} = 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Die Normierung erfolgte auf den Mittelwert von $F(t)$ der Messung $tox.(0)$.

Die Rfd-Werte der Kinetiken der dunkeladaptierten Proben in Abb. 3.9 zeigen keine eindeutige Abhängigkeit von I_{A0} , während sich die zu F_p gehörende Zeit t_p mit zunehmender Intensität I_{A0} jeweils etwa um 0,05 s verringert. Ferner weisen die in Abb. 3.9 dargestellten Untersuchungen auf einen linearen Zusammenhang zwischen den Intensitäten der Maximalfluoreszenz und der Anregung mit $F_m \sim I_{A0}$ hin, wie sich gleichfalls an adäquaten Proben der übrigen Spezies feststellen ließ.

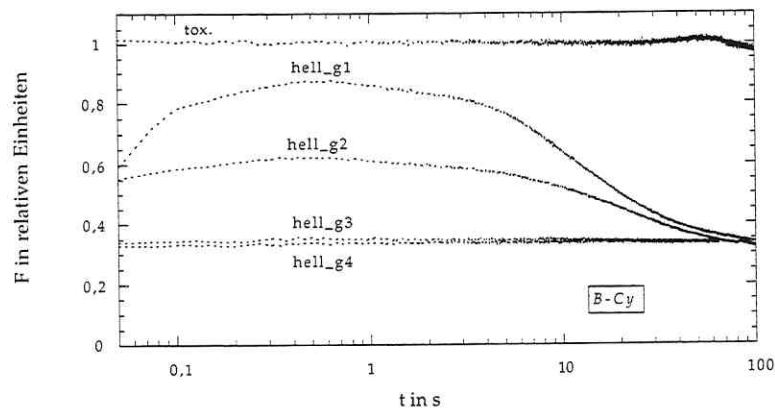


Abb. 3.10. Fluoreszenzintensitäten $F(t)$ der Spezies *Cyclotella meneghiniana* des braunen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung und verschiedener Helladaptationen hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$, die sich auf variierte Zeiten t_i der intermediären Dunkeladaptation beziehen. Dabei stehen g1 für $t_i = 1200$ s, g2 für $t_i = 50$ s, g3 für $t_i = 5$ s und g4 für $t_i = 1$ s.

Wie bereits anhand der Kinetik im Fall der Helladaptation hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$ in Abb. 3.7 gezeigt, verdeutlichen nun die Kinetiken, dargestellt in Abb. 3.10, die Wirkung der Vorbehandlung in Abhängigkeit von der Zeit t_i der intermediären Dunkeladaptation. Die Kinetik hell_g1 ist unterdessen identisch mit der Kinetik der herkömmlichen Dunkeladaptation, d.h. $t_i = t_a$ (zum Vgl. s. Abb. 3.8). Damit geht die Annahme einher, daß sich die Lichtverhältnisse unmittelbar vor der Zeit $t_i = t_a$ nicht mehr auf den Kinetikverlauf auswirken. Dem üblichen Hergang der Helladaptation einer Probe entspricht mit $t_i = 1$ s die Kinetik hell_g4. Die Wirkung der Vorbehandlung bleibt quasi unvermindert erhalten, da $F(t)$ für $I_{V0} = I_{A0}$ umgehend den Gleichgewichtswert F_s annimmt, der sich bereits in der Zeit t_a der Vorbehandlung eingestellt haben muß. Dieser Fall hell_g4 stimmt somit qualitativ völlig mit der Kinetik hell_g in Abb. 3.7 überein. Anhand der Kinetiken hell_g2 und hell_g3 der helladaptierten Proben wird nun hingegen deutlich, daß sich der Einfluß der Vorbehandlung mit der Zunahme von t_i vermindert, oder anders gesagt, mit Anwachsen von t_i wird die Probe eben zunehmend dunkel adaptiert. Die Kinetiken der Abb. 3.10 dokumentieren somit den Einfluß des Zeitabstands zwischen Lichtadaptation und Messung auf die Reaktionszustände der Redoxkomponenten in den Photosystemen eukaryotischen Zellmaterials, was sich durch ein sachgerechtes Modell nachvollziehen lassen sollte.

3.5 Felduntersuchungen

Am 14.08.1996 wurde an der Elbe, Stromkilometer 318, linksseitig eine Tagesuntersuchung durchgeführt, der verschiedene Studien vorausgingen [s. Günther, 1996]. Als Meßplattform wurde eine Pontonstation¹ genutzt, auf der sich die in Abs. 3.2 bis Abs. 3.4 geschilderten Meßanordnungen aufbauen und einsetzen ließen.

¹ Automatische Meßstation in Magdeburg-Westerhüsen betrieben durch das Staatliche Amt für Umweltschutz Magdeburg.

Die in Abb. 3.11 und Abb. 3.12 dargestellten Ergebnisse gehen auf gemittelte Werte aus Untersuchungen an fünf Proben zurück, die morgens um 7:00 Uhr beginnend in einem zeitlichen Abstand von drei Stunden genommen wurden. Dieser Rhythmus wurde gewählt, um einerseits die Proben unmittelbar nach der Entnahme aus dem Gewässer untersuchen zu können und andererseits die mittlere Beschaffenheit des Elbewassers hinsichtlich der Untersuchungsparameter im Tagesverlauf zu erfassen.

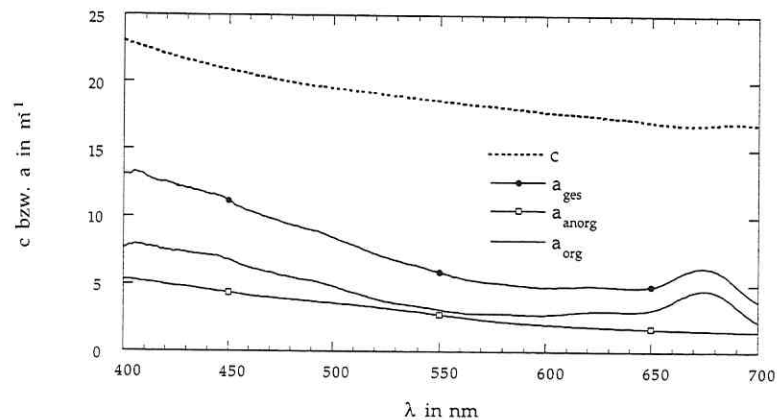


Abb. 3.11. Attenuationskoeffizient c der Inhaltsstoffe des Elbewassers am 14.08.1996 und die entsprechenden Absorptionskoeffizienten der gesamten, der anorganischen und der organischen partikulären Stoffe. Der mittlere Chl- a -Gehalt betrug $(112 \pm 11) \text{ mg m}^{-3}$ bzw. die molare Chl- a -Konzentration $(125 \pm 12) \mu\text{mol m}^{-3}$, womit sich der spezifische Absorptionskoeffizient a^* angeben lässt (dargestellt im Anhang, Abb. 8.9).

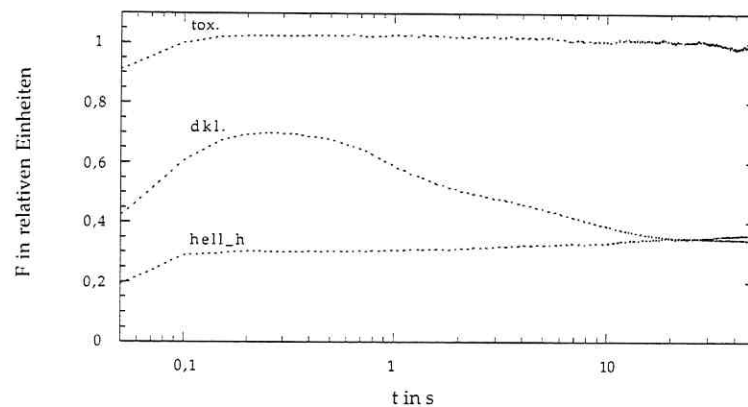


Abb. 3.12. Fluoreszenzintensitäten $F(t)$ der Algenpopulation des Elbewassers am 14.08.1996 für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaptation und einer Helladaptation. Die Helladaptation hell_h bezieht sich auf $I_{V0} = 2 I_{A0}$. Normiert wurden die Kurven wie in Abs. 3.4 auf den Mittelwert von $F(t)$ des toxisch behandelten Falls. Außerdem erfolgten die Untersuchungen wiederum bei $t_s = 20 \text{ min}$, $t_i = 1 \text{ s}$ und $I_{A0} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Das Vorgehen zur Bestimmung der in Abb. 3.11 gezeigten Absorptionskoeffizienten für verschiedenartige Schwebstoffe der Elbe war folgendermaßen: Zunächst wurde, wie in Abs. 3.3 beschrieben, a_{ges} für die Gesamtheit aller partikulären Stoffe vom Filtrationsrückstand einer Probe bestimmt. Aus einer Parallelprobe wurde zusätzlich der Glührückstand¹ gewonnen. Dieser Rückstand wurde mit aq. dest. versetzt wieder in das Ausgangsvolumen der Probe gebracht und dann erneut filtriert. An dem so gewonnenen Filtrationsrückstand ließ sich nun getrennt der Absorptionskoeffizient der anorganischen partikulären Stoffe a_{anorg} bestimmen. Die Differenz a_{ges} abzüglich a_{anorg} ergab a_{org} , worin der Absorptionskoeffizient der Algen neben Koeffizienten bezüglich weiterer organischer partikulärer Stoffe wie z.B. Partikel zerfallener Zellen (Detritus) enthalten ist. Wahrscheinlich muß in einem natürlich belasteten Gewässer mit einem erheblichen Anteil Detritus gerechnet werden. Damit ließe sich der spezifische Absorptionskoeffizient a^* organischer partikulärer Stoffe der Elbe erklären, der verglichen mit a^* der Algenkulturen deutlich höher liegt (s. Anhang, Abb. 8.9).

Die Kinetiken $F(t)$ in Abb. 3.12 zeigen wie die Kinetiken der Algenkulturen in Abb. 3.6 bis Abb. 3.8 Verlaufsformen in eindeutiger Abhängigkeit von der Probenvorbehandlung. Der Fluoreszenzpeak F_p der dunkeladaptierten Proben trat bei $t_p = 0,25$ s auf, und der gemäß Gl. (2.10) berechnete Wert R_{fd} betrug 1,05. Der Wert des R_{fd} zeigt nach Lichtenthaler und Rinderle [1988] die relative Vitalität der Zellen an und somit auch ein bestimmtes photosynthetisches Potential. Dieses für die Algen nicht näher quantifizierte Potential beeinflusste mit Sicherheit die O_2 -Entwicklung in der Elbe, in der von 8 bis 17 Uhr des entsprechenden Tages eine O_2 -Zunahme von $0,3 \text{ mg l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ermittelt wurde (s. Anhang, Abb. 8.14).

Sämtliche Probenahmen erfolgten 0,2 m unterhalb der Wasseroberfläche, wobei der Wasserstand an diesem Tag in Magdeburg bei 1,61 m lag. Gleichfalls aus der Tiefe von 0,2 m wurden mittels einer Tauchpumpe Gewässerproben durch einen transparenten Schlauch kontinuierlich auf die Meßplattform gefördert. Dieses Probegut durchlief unverzüglich ein Turnerfluorometer² in einer Durchflußanordnung, womit die Fluoreszenzemission für Elbeproben stetig in willkürlichen Einheiten gemessen wurde. Um den Einfluß von Schwankungen der Chl-*a*-Konzentration im Tagesverlauf auf die gemessene Fluoreszenzemission zu unterdrücken (s. Anhang, Abb. 8.15), wurden die Meßwerte zunächst auf die zugehörigen Chl-*a*-Gehalte bezogen. Diese ermittelten Werte wurden dann auf einen zusätzlich bestimmten Maximalwert der Fluoreszenz F_{ND} einer mit DCMU toxisch behandelten Tagesmischprobe normiert, womit sich die Meßwerte F_N mit $0 \leq F_N \leq 1$ relativ skaliert angeben ließen (s. Anhang, Abb. 8.15).

Da das Probegut vor dem direkten Eintritt in die Durchflußküvette der Fluoreszenzmessung eine kurze Dunkelstrecke passierte, ergab sich anhand des Durchflusses wiederum eine Zeit t_i der intermediären Dunkeladaption, im konkreten Fall $t_i \approx 2,5$ s. Aus dem Durchfluß des Probeguts durch die Meßküvette resultierte schließlich auch eine integrative Beobachtungszeit für die Fluoreszenzintensität der beobachteten Population des Probeguts von $t \approx 0,5$ s. Damit lassen sich solche integrativ ermittelten Werte F_T hinsichtlich der Kinetiken $F(t)$, denen $F(0) = 0$ zugrunde liegt, wie folgt ausdrücken:

¹ Der Glührückstand, ermittelt gemäß der DIN 38409-H2-2 [1987], wurde als anorganischer partikulärer Bestandteil einer Probe betrachtet, der in Lösung gebracht a_{anorg} der Ausgangsprobe ungefähr repräsentiert.

² Turnerfluorometer vom Typ 10-AU-005; GAT GmbH, Bremerhaven. Die Anregung bzw. Beobachtung der Fluoreszenz einer Probe in der Durchflußküvette erfolgt im rechten Winkel über eine interne Blendenanordnung. Die Spektralcharakteristik der konventionellen Anregungs- bzw. Meßstrecke durch den Einsatz von Farbfiltern ist im Anhang, Abb. 8.3 gezeigt.

$$F_T = \frac{\int_0^{0,5s} F(t) dt}{\int_0^{0,5s} dt} \quad (3.3).$$

Für den Fall der toxischen Behandlung (Abb. 3.12) ergibt sich gemäß Gl. (3.3) aus $F(t)$ mit $I_{A0} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ umgehend ein integrativer Wert $F_{TD} = 1$. Die Anregungsintensität I_{AT} , die in dem Turnerfluorometer auf die Probe traf, wurde anhand einer Messung der PAR mit $I_{AT} = 4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, d.h. mit $I_{AT}/I_{A0} = 1/5$ ermittelt. Mit diesem Verhältnis und unter der Voraussetzung der Proportionalität $F_m \sim I_{A0}$, wie in Abs. 3.4 festgestellt, gilt schließlich auch $F_{TD} = 1/5 F_{ND}$, womit sich die ermittelten In-vivo-Fluoreszenzdaten F_N (Abb. 8.15) auf die Kinetiken $F(t)$ in Abb. 3.12 bezugnehmend als F_T gemäß Abb. 3.13 darstellen ließen.

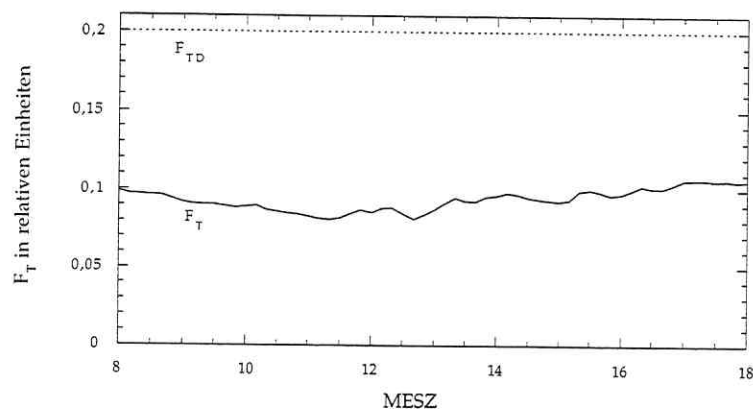


Abb. 3.13. Aus In-vivo-Messungen ermittelte Werte der Fluoreszenzemission F_T der Algenpopulation in der Elbe am 14.08.1996. Der Wert F_{TD} geht auf eine toxisch behandelte Tagesmischprobe zurück.

Die in Abb. 3.11 bis 3.13 gezeigten Untersuchungsergebnisse sollten genügen, mit Hilfe eines angemessenen Modells stetig auf die durch die Algenpopulation absorbierte Intensität der PAR im Gewässer zurückzuschließen. Solch ein Modell wird im Folgekapitel vorgestellt.

4. Modell zur Kinetik der Fluoreszenzintensität

Um die komplexen Zusammenhänge der photosynthetischen Lichtreaktion, die sich einer unmittelbaren Bewertung entziehen, quantifizierbar betrachten zu können, wurde unter Inkaufnahme von Vereinfachungen ein Modell erarbeitet. Die anschließend dargelegte Formulierung hat zum Ziel, anhand wesentlicher Mechanismen der Lichtreaktion gemessene Intensitätsverläufe der In-vivo-Fluoreszenz für ein Zeitintervall $10^{-2} \text{ s} < t < 10^2 \text{ s}$ rechnerisch zu beschreiben. Eine besondere Ausrichtung liegt dabei in der Berechnung einer Kurvenschar, die, wie in Abs. 3.4 und 3.5 vorgestellt, die Dunkel- sowie Helladaption und ferner die DCMU-Behandlung untersuchter eukaryotischer Zellgesamtheiten wiedergibt.

4.1 Vereinfachende Modellannahmen

Allein angesichts des Z-Schemas (Abb. 2.6) wird deutlich, daß eine Ausformulierung sämtlicher Ladungstransportmechanismen ein überaus umfangreiches Reaktionssystem nach sich zieht. Eine Betrachtung aller in Abs. 2.3 angeführten Übergänge der Lichtreaktion, die eine Anzahl unbekannter Parameter enthalten, würde die mathematische Darstellung im Ergebnis kaum präzisieren. Deshalb werden als Voraussetzung zur Aufstellung eines mit den lichtinduzierten Energieübergängen hinreichend verträglichen Reaktionssystems nachstehend vereinfachende Annahmen getroffen:

- (1) Als grundlegendes Funktionsmuster wird die Konzeption der PSU unter Berücksichtigung der Stöchiometrie der Komponenten benutzt. Jede PSU wird als eigenständig arbeitende Einheit verstanden.
- (2) Wie in Abs. 2.3.2 vereinfacht eingeführt, wird LHC als ein funktioneller Komplex aller mit einem RC in Verbindung stehenden Pigmentanordnungen behandelt, d.h. unabhängig von proteingebundenen Substrukturen.
- (3) Es wird von stabilen LHC der beiden Photosysteme ohne Exzitonenaustausch ausgegangen. Damit werden dynamische Heterogenitäten der Photosysteme und direkte Exzitonentransfers zwischen LHC II und LHC I vernachlässigt (s. Abs. 2.3.2).
- (4) Im PS II wird das Chl *a* des LHC II als der mit dem RC II gekoppelte Pigmentanteil des LHC II verstanden. Dieser Anteil wird im weiteren mit C bezeichnet, während [C] die Anzahl der Chl-*a*-Moleküle im PS II bezogen auf das P_{680} angibt.
- (4a) Die Anregung von C erfolgt mit der Rate der Lichtabsorption j_a , die sich aus direkt absorbierten Photonen und aus übertragenen Exzitonon der akzessorischen Pigmente zusammensetzt. Dabei wird die durch akzessorische Pigmente absorbierte Energie quasi verlustfrei an die Chl-*a*-Moleküle weitergeleitet.
- (4b) Die In-vivo-Fluoreszenzemission geht nahezu vollständig von C im angeregten Zustand C^* aus, womit praktisch $[C^*] \sim F$ gültig ist (s. Abs. 2.4). Akzessorische Pigmente dienen ohne die Möglichkeit der Rückreaktion ausschließlich als Zubringer von Exzitonon.
- (4c) Eine mögliche direkte Anregung durch Licht bzw. Relaxation über Fluoreszenz oder Wärme des Primärdonators P_{680} des RC II wird nicht in die Betrachtungen einbezogen, da das Verhältnis $P_{680}:C$, d.h. $1/[C]$ in der Größenordnung 1:100 liegt [s. Schatz et al., 1988].

- (5) Der Elektronentransport wird unbeeinflusst vom Protonentransport als linear angesehen. Folglich werden nichtlineare (zyklische) Elektronentransportprozesse sowie Einflüsse auf die Beweglichkeit von PQ und PC beim Elektronentransport durch Änderungen des ΔpH über der Thylakoidmembran vernachlässigt (s. Abs. 2.3.3).
- (5a) Limitiert wird der Elektronentransport maßgeblich durch den Übergang von PS II zu PS I, d.h. der Elektronentransport in das PS II und aus dem PS I erfolgt im Vergleich zu den sonst betrachteten Reaktionen ohne Verzögerung.
- (5b) Die Reaktionskomponenten P_{680} , Pheo und Q_A des RC II werden als P zusammengefaßt, so daß die Sequenzen der Ladungstrennung gemäß der Gln. (2.7a-d) als ein Schritt der Radikalpaarausbildung von P zu $P^\pm$ behandelt werden, dem sich der Elektronentransport anschließt.
- (5c) PS I wird zuzüglich der Reaktionskomponenten Cyt b/f und PC als ein einziger Akzeptorkomplex A des PS II aufgefaßt. Die Bereitschaft zur Elektronenaufnahme wird durch die Radikalpaarausbildung von A zu $A^\pm$ dargestellt, die sich durch eine nicht explizit formulierte Lichtanregung des PS I einstellt. Diese Anregung wird mit einem Faktor n proportional zu der Rate der Lichtabsorption j_a angesetzt.
- (5d) Die Vermittlung zwischen P und A, welche dem Elektronentransport durch den Pendelverkehr des PQ zwischen den spezifischen Bindungsstellen am RC II und Cyt b/f entspricht und mit den Gln. (2.8a-c) beschrieben wurde, ist zusammengefaßt mit Hilfe eines nur einfach reduzierbaren Chinons Q darstellbar.
- (6) Innerhalb des Modells lassen sich die in Betracht gezogenen Teilprozesse der Lichtreaktion abhängig vom Reaktionszustand, d.h. vom Anregungs- bzw. Redoxzustand der Komponenten und durch entsprechende, zeitlich unabhängige Ratenkonstanten ausdrücken.

4.2 Modellformulierung

Mit den zuvor getroffenen Annahmen läßt sich das in Abb. 4.1 gezeigte Schema zur Beschreibung der Lichtreaktion aufstellen. Es lag nahe, die betrachteten Komponenten in Abhängigkeit vom Reaktionszustand mit den berücksichtigten Übergängen anzugeben.

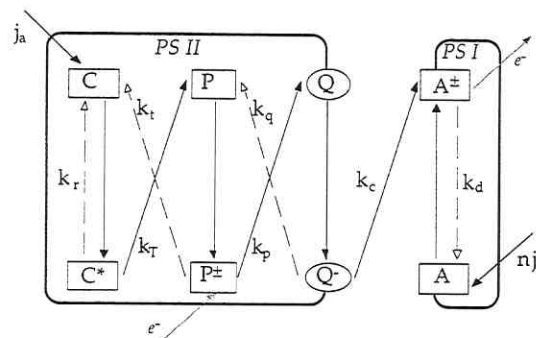


Abb. 4.1. Vereinfachtes Reaktionsschema der PSU. Die Komponenten sind durch Großbuchstaben dargestellt, betreffs der Lichtempfindlichkeit grau unterlegt und mit hochgestellten Symbolen betreffs ihres Reaktionszustands markiert. Durch Pfeile mit indizierten Ratenkonstanten k sind die Termübergänge gekennzeichnet, wobei gestrichelte Pfeile Rückreaktionen angeben.

In Abb. 4.1 wird das PS II in Form von C, dem Chl-*a*-Anteil des LHC II, und P, dem an der Ladungstrennung beteiligten Anteil des RC II, betrachtet. Zwischen P und dem Akzeptorkomplex A werden Elektronen über das einfach reduzierbare Chinon Q transportiert. Den nichtlimitierten Transport der Elektronen e^- von der Donatorseite des PS II zum $P^\pm$ und von $A^\pm$ zur Akzeptorseite des PS I deuten die in Abb. 4.1 grau gezeichneten Pfeile an. Die Rate der Lichtabsorption j_a , die sowohl direkt absorbiertes Licht als auch empfangene Exzitonen aus den akzessorischen Pigmenten darstellt, verursacht angeregte Zustände C^* , die mit der Ratenkonstante k_r relaxieren. Diese Ratenkonstante faßt die Ratenkonstanten der Fluoreszenzemission und Dissipation mit $k_r = k_f + k_D$ zusammen. Außerdem werden die angeregten Zustände C^* durch die Übertragung von Exzitonen auf P mit der Ratenkonstante k_T abgebaut. P geht seinerseits mit dem Empfang von Exzitonen in den Redoxzustand $P^\pm$ über, der die Ladungstrennung im RC II symbolisiert. $P^\pm$ rekombiniert durch die Rückübertragung von Exzitonen auf C und durch den Transport von Elektronen zum Chinon Q mit den entsprechenden Ratenkonstanten k_t und k_p . Durch die Elektronenaufnahme wird Q reduziert und gelangt in den Zustand Q^- , der zum einen durch den Rücktransport von Elektronen auf P mit k_q und zum anderen durch die Weiterleitung von Elektronen auf den empfangsbereiten Akzeptorkomplex $A^\pm$ mit k_c zurückgesetzt wird. Als empfangsbereit wird der Akzeptorkomplex A im Redoxzustand $A^\pm$ angesehen, der sich vergleichbar mit $P^\pm$ letztendlich lichtinduziert durch eine Rate der Lichtabsorption, die über den Faktor n proportional zur Rate j_a verstanden wird, einstellt. Neben der Elektronenleitung wird eine Rückreaktion von $A^\pm$ zu A vor allem durch dissipative Prozesse mit der Ratenkonstante k_d angesetzt.

Änderungen in der Anzahl von Anregungs- bzw. Redoxzuständen der Komponenten lassen sich in Übereinstimmung mit dem oben dargelegten Reaktionssystem schließlich auch mathematisch durch ein gekoppeltes Differentialgleichungssystem folgendermaßen formulieren:

$$\begin{aligned} d[C^*]/dt &= j_a [C] - k_r [C^*] - k_T [P][C^*] + k_t [P^\pm][C] \\ d[P^\pm]/dt &= k_T [P][C^*] - k_t [P^\pm][C] - k_p [P^\pm][Q] + k_q [P][Q^-] \\ d[Q^-]/dt &= k_p [P^\pm][Q] - k_q [P][Q^-] - k_c [Q^-][A^\pm] \\ d[A^\pm]/dt &= n j_a [A] - k_d [A^\pm] - k_c [Q^-][A^\pm] \end{aligned} \quad (4.1).$$

Hierbei weisen die eckigen Klammern darauf hin, daß es sich um die Angabe von Konzentrationen innerhalb einer PSU handelt. Unter Bezug auf die Grundgesamtheiten:

$$\begin{aligned} [C_0] &= [C] + [C^*] & \text{mit } c &= [C^*]/[C_0] \\ [P_0] &= [P] + [P^\pm] & \text{mit } p &= [P^\pm]/[P_0] \\ [Q_0] &= [Q] + [Q^-] & \text{mit } q &= [Q^-]/[Q_0] \\ [A_0] &= [A] + [A^\pm] & \text{mit } a &= [A^\pm]/[A_0] \end{aligned} \quad (4.2)$$

lassen sich die Gleichungen des Systems (4.1) normiert dergestalt angeben:

$$dc/dt = j_a (1 - c) - k_r c - k_T (1 - p)c[P_0] + k_t p(1 - c)[P_0] \quad (4.3a)$$

$$dp/dt = k_T (1 - p)c[C_0] - k_t p(1 - c)[C_0] - k_p p(1 - q)[Q_0] + k_q (1 - p)q[Q_0] \quad (4.3b)$$

$$dq/dt = k_p p(1 - q)[P_0] - k_b (1 - p)q[P_0] - k_c q a[A_0] \quad (4.3c)$$

$$da/dt = n j_a (1 - a) - k_d a - k_c q a[Q_0] \quad (4.3d).$$

4.3 Modellinterpretation

Die Lösungen der Gln. (4.3a-d), die aufgrund ihrer Normierung zwischen Werten von 0 und 1 liegen, zeigen den Konzentrationsgrad der Anregungs- bzw. Redoxzustände der Komponenten in Abhängigkeit von der Zeit an. Im Endeffekt soll also der Verlauf $c(t)$ die Kinetik der Fluoreszenzintensität $F(t)$ gemäß dem Ansatz wiedergeben, daß sich die Fluoreszenzintensität proportional zur Anzahl der angeregten Zustände $[C^*]$ verhält, d.h. $F(t) \sim c(t)$.

Aus der Modellformulierung ist unmittelbar zu erkennen, daß die zeitliche Änderung der Konzentrationen der Anregungs- und Redoxzustände – nichts anderes stellen die Differentialquotienten auf der linken Seite der Gln. (4.3a-d) dar – von konkreten Reaktionen abhängig sind. Diese Reaktionen werden in Form von Relaxationsprozessen für Anregungszustände der lichtempfindlichen Komponenten C und A durch die Reaktionen erster Ordnung mit den Konstanten k_r und k_d berücksichtigt. Alle übrigen Reaktionen finden zwischen jeweils zwei Reaktionspartnern statt und sind demzufolge durch Reaktionen zweiter Ordnung ausgedrückt, wobei k_t und k_q in der Literatur angegebene Rückreaktionen kennzeichnen (s. Abs. 2.3.2 und 2.3.3).

Am Beginn der Beobachtung zum Zeitpunkt $t_0 = 0$ liegt das System in einem Zustand vor, der durch die Anfangsbedingungen $c(t_0)$; $p(t_0)$; $q(t_0)$; $a(t_0)$ charakterisiert ist. Sind im Gleichgewicht zum Zeitpunkt t_0 weder Anregungs- noch Redoxzustände der Komponenten existent, liegen die Anfangsbedingungen der idealen Dunkeladaption des Systems vor:

$$c(t_0) = 0; p(t_0) = 0; q(t_0) = 0; a(t_0) = 0 \quad (4.4).$$

Dieser Idealfall der absoluten Grundzustände der Systemkomponenten wird als annähernd erfüllbar vorausgesetzt, so daß sich mit dem Gleichgewicht der Dunkeladaption eine reproduzierbare Ausgangssituation ergibt, die mit der in Abs. 2.4.2 hinsichtlich der Messung erwähnten Situation vergleichbar ist. Reaktionszustände, die länger anhaltend nach dem Eintreten der Dunkelheit auftreten können und andere Lumineszenzformen als die spontane Fluoreszenz verursachen, werden entsprechend Abs. 2.4 bereits in der Gl. (2.1) vernachlässigt.

Ohne Antrieb durch eine Rate der Lichtabsorption, d.h. mit $j_a = 0$ und mit den obigen Anfangsbedingungen treten erwartungsgemäß auch keine zeitlichen Änderungen dc/dt ; dp/dt ; dq/dt ; da/dt in den Gln. (4.3a-d) auf. Die Komponenten des dunkeladaptierten Systems verharren im Grundzustand, gleichbedeutend dem Gleichgewicht der Dunkeladaption. Tritt hingegen eine konstante Rate der Lichtabsorption $j_a > 0$ für ein derartiges dunkeladaptiertes System ein, ist nun auch mit Differentialquotienten ungleich null zu rechnen. Damit ergeben sich zeitabhängige Werte $c(t)$; $p(t)$; $q(t)$ und $a(t)$, bevor sich voraussichtlich erneut ein Gleichgewicht mit den dazugehörigen zeitlich unveränderlichen Werten $0 < c_s$; p_s ; q_s ; $a_s < 1$, mit $c_s \sim F_s$, für das System einstellt. Diese Werte entsprechen dann gleichzeitig den Anfangsbedingungen der Helladaption des mit j_a vorbelichteten Systems, gesetzt den Fall, daß t_0 in der Gleichgewichtsphase liegt. Mit diesen Anfangsbedingungen und einem spontanen Ende der Belichtung, sind nun mit $j_a = 0$ zeitliche Änderungen dc/dt ; dp/dt ; dq/dt ; da/dt kleiner als null, d.h. die Abklingkinetiken von $c(t)$; $p(t)$; $q(t)$ und $a(t)$ zu erwarten, bis sich wiederum das Systemgleichgewicht der Dunkeladaption einstellt.

Das Abklingverhalten $c(t)$; $p(t)$; $q(t)$ und $a(t)$ eines helladaptierten Systems nach Beendigung der Belichtung geht zurück auf die Geschwindigkeiten der verbleibenden Übergänge. Die Abläufe der Ladungstrennung und des Ladungstransports, die in den Abs. 2.3.2 und 2.3.3 vorgestellt wurden, vollziehen sich in Zeitgrößenordnungen unterhalb 10^{-1} s. Werden die in dem

Modell berücksichtigten Rückreaktionen gleichfalls in dieser Größenordnung angenommen, würde das gesamte System in verhältnismäßig kurzer Zeit wieder vollkommen im Grundzustand vorliegen. Besonders aber die notwendige Dauer der Dunkeladaption, die nach Büchel und Wilhelm [1993] in der Größenordnung von 10^3 s zu finden ist, um einen reproduzierbaren Ausgangszustand des Zellmaterials bzw. eben das Gleichgewicht des Systems zu erlangen, deutet allerdings darauf hin, daß mindestens ein Prozeß, der lichtinduzierte Reaktionszustände zurücksetzt, wesentlich langsamer ablaufen muß. Da die Intensität der spontanen In-vivo-Fluoreszenz, die implizit mit der Ratenkonstante k_r erfaßt wurde, sehr schnell nach dem Ende der Belichtung abklingt, kann davon ausgegangen werden, daß dieser langsame Prozeß nicht unmittelbar mit $c(t)$ in Verbindung steht. Auch ein Zusammenhang mit $p(t)$ und $q(t)$, die nicht nur in Richtung des photochemischen Energietransports, sondern auch rückkoppelnd durch k_t und k_q im Modell berücksichtigt worden sind, scheidet als Ursache eines langsamen Prozesses aus, weil das sofortige Abklingen der Fluoreszenzintensität bei $j_a = 0$ notwendigerweise schnell ablaufende Energieübergänge innerhalb des PS II fordert.

Somit ist absehbar, daß sich der Prozeß, der das langsame Abklingverhalten des helladaptierten Systems nach Beendigung der Belichtung hervorruft, auf der nicht rückgekoppelten Akzeptor-seite des PS II abspielt. Der dementsprechende Akzeptorkomplex A, der im Modell des photochemischen Elektronentransports als Zusammenfassung sämtlicher dem PS II nachfolgenden Komponenten einschließlich des PS I verstanden wird, ist lichtinduziert bereit, Elektronen aus dem PS II mit k_c aufzunehmen, aber keinesfalls bereit, Elektronen an PS II zurückzugeben. Eine Rücksetzung des Redoxzustands A^+ erfolgt danach durch den Empfang von Elektronen aus dem PS II mit k_c , dem geschwindigkeitslimitierenden Schritt der Lichtreaktion gemäß Gl. (2.8c) und durch eine Relaxation mit k_d , die alle intern möglichen Rückreaktionen des Akzeptorkomplexes zusammenfaßt.

Wird nun vorausgesetzt, daß in Zeiten oberhalb 10^{-1} s nach dem Ende der Belichtung gilt: $c; p; q \ll a$ bzw. streng gefordert $c; p; q = 0$, ergibt sich für dementsprechende Zeiten die Änderung des Reaktionszustands des Systems mit $j_a = 0$ allein anhand der Gl. (4.3d) in folgender Weise:

$$da/dt = -k_d a \quad (4.5)$$

mit der Lösung:

$$a = a_0 e^{-k_d t} \quad (4.6).$$

Dieses entspricht einem häufig vorkommenden Abklingverhalten, wobei die Integrationskonstante a_0 als normierte Anfangskonzentration $a_0 = [A^+(t_0)]/[A_0]$ bei Einsetzen von $j_a = 0$ zum Zeitpunkt $t_0 = 0$ zu verstehen ist. Von Bedeutung ist diese scheinbar beiläufige Überlegung besonders hinsichtlich der experimentellen Betrachtungen helladaptierter Systeme. Wie bereits in Abs. 3.4 dargelegt, wurde nach Ende der Helladaption eine kurze Phase der Dunkeladaption der Zeit t_i vor Beginn der Beobachtung eingeschoben, da meßtechnisch ein direktes Umschalten zwischen den Intensitäten der Vorbelichtung und des Meßlichts einen problematischen Übergang verursacht hätte.

Der helladaptierte Systemzustand kann nun schließlich nach der intermediären Dunkeladap-tionszeit t_i , mit zweckmäßig 10^3 s $\gg t_i > 10^{-1}$ s, über einen einzigen veränderlichen Parameter verhältnismäßig einfach abgeschätzt werden, ohne daß die Auswirkung der vorangegangenen Helladaption auf das System aufgehoben ist. Es ergeben sich die Anfangsbedingungen für einen

um die intermediäre Dunkeladaptionszeit t_i verschobenen Beobachtungsbeginn eines helladaptierten Systems:

$$c(t_i) = 0; p(t_i) = 0; q(t_i) = 0; a(t_i) = a_0 e^{-k_d t_i} \quad (4.7).$$

Folglich wird im Modell über die Ratenkonstante k_d , welche dann deutlich kleiner als sämtliche übrigen Ratenkonstanten sein muß, das langsame Abklingverhalten lichtinduzierter Anregungszustände des Systems, also gleichermaßen die notwendige Dauer der Dunkeladaptation zur Erlangung des Systemgrundzustands entscheidend bestimmt.

Ein weiterer grundlegender Systemzustand liegt vor, wenn der Elektronentransport zwischen dem RC II und dem PQ blockiert wird. Durch die toxische Behandlung von Zellen mittels des künstlichen Redoxsystems DCMU wird die Q_B -Bindungsstelle besetzt (s. Abs. 2.4.2 bzw. Abs. 3.4). Das bedeutet, aus dem geschlossenen RC II fließen keine Elektronen ab, wodurch sich mit Einsetzen von $j_a > 0$ unmittelbar die größtmögliche Konzentration an P^+ einstellt, welche rückkoppelnd zur äußersten Exzitonendichte c_m , mit $c_m \sim F_m$, im PS II führt. Dieser Fall, formuliert durch die Setzung der Ratenkonstante $k_p = 0$, vereinfacht das gekoppelte Gleichungssystem (4.3a–d) wie folgt:

$$dc/dt = j_a (1 - c) - k_r c - k_T (1 - p) c [P_0] + k_t p (1 - c) [P_0] \quad (4.8a)$$

$$dp/dt = k_T (1 - p) c [C_0] - k_t p (1 - c) [C_0] \quad (4.8b).$$

Während die Gl. (4.3a) mit Gl. (4.8a) identisch ist, tritt in Gl. (4.3b) gemäß $k_p = 0$ ein Wegfall der Terme, die q enthalten, ein, so daß sich Gl. (4.8b) ergibt. Da Q nicht reduziert wird, womit gleichzeitig $k_q = 0$ gilt, können selbstverständlich unter der Voraussetzung $q(t_0) = 0$ bzw. $q(t_i) = 0$ auch keine Elektronen aus Q abgeführt werden, und Gl. (4.3c) geht über in $dq/dt = 0$. Demzufolge liegt die Gl. (4.3d) entkoppelt vor und ist hinsichtlich der Fluoreszenzbetrachtung des mit DCMU behandelten Systems nicht von Belang.

Unter der Voraussetzung, daß der Peak der Fluoreszenzintensität F_p , mit $F_p \sim c_p$, des dunkeladaptierten Systems auf die geschwindigkeitslimitierende Elektronenübertragung zwischen den zwei seriell arbeitenden Photosystemen zurückgeht, resultiert, daß bereits eine unmittelbare Kopplung von P und A über eine zusammenfassende Geschwindigkeitskonstante k_{pc} die Modellierung des Peaks c_p prinzipiell erlauben sollte. Wie noch in Abs. 5.1 gezeigt wird, ist c_p tatsächlich bereits durch folgende vereinfachte Modellvariante darstellbar:

$$dc/dt = j_a (1 - c) - k_r c - k_T (1 - p) c [P_0] + k_t p (1 - c) [P_0] \quad (4.9a)$$

$$dp/dt = k_T (1 - p) c [C_0] - k_t p (1 - c) [C_0] - k_{pc} p a [A_0] \quad (4.9b)$$

$$da/dt = n j_a (1 - a) - k_d a - k_{pc} p a [P_0] \quad (4.9c).$$

Hierbei wird der Beginn des Anstiegs sowohl für das dunkeladaptierte als auch für das mit DCMU behandelte System gleichermaßen durch den Übergang von P zu P^+ bestimmt. Wie jedoch aus der Literatur bekannt [z.B. Owens, 1991; Lichtenthaler und Rinderle, 1988] und auch in den Experimenten (Abs. 3.4 und 3.5) bestätigt werden konnte, unterscheiden sich die beiden Fälle nachweislich für eine beliebige Gesamtheit besonders in der Form, daß der Anstieg auf c_m steiler als der auf c_p ist.

Um diesen Unterschied darstellen zu können, ergab sich die Notwendigkeit, den Übergang von PS II zu PS I durch die Gl. (4.3c) im Grundmodell separat zu berücksichtigen. Ohne die DCMU-Behandlung des Systems kann dann im Fall einer Anregung gerade das Chinon Q im

Grundzustand Elektronen aus $P^{\pm}$ mit k_p aufnehmen, wodurch $c(t)$ und $p(t)$ voraussichtlich verzögert auf c_p und p_p anwachsen, bevor sich durch die unumkehrbare Weiterleitung des Elektrons über Q auf den empfangsbereiten Akzeptorkomplex $A^{\pm}$ mit $k_c < k_p$ die Konzentrationen c und p wieder merklich vermindern. Diese Übertragung verkörpert den Elektronentransport durch die Drift des Plastochinons innerhalb der Thylakoidmembran zwischen den entsprechend vakanten Bindungsstellen am RC II und dem Cyt b/f, womit, wie in Abs. 4.1 vorausgesetzt, die Gl. (2.8a-c) zusammengefaßt im Grundmodell einbezogen wurden.

Der grundlegende Schritt zur Modellierung des typischen Peaks der Fluoreszenzintensität F_p dunkeladaptierter Systeme geht auf die Überlegung zurück, daß die beiden lichtempfindlichen Systeme PS II und PS I geschwindigkeitslimitierend seriell arbeiten. Wie in Abb. 4.2 radikal schematisiert gezeigt, ist ihre Arbeitsweise im Prinzip mit der zweier durch einen Engpaß verbundenen Dipole vergleichbar, die sich lichtinduziert ausbilden.

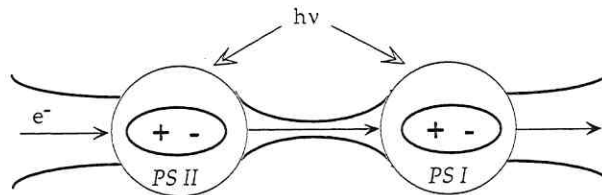


Abb. 4.2. Grundprinzip des im Modell angenommenen Elektronentransports zwischen PS II und PS I. Die Zeichen der Polung '+' und '-' deuten die jeweilige gerichtete Ausbildung eines Radikalpaares in den Reaktionszentren der Photosysteme nach der Energiezufuhr $h\nu$ an.

Besonders die Betrachtungsweise in Abb. 4.2 verdeutlicht einen zwangsläufig notwendigen Unterschied in der mathematischen Formulierung des Elektronentransports zwischen PS II und PS I. Während die photochemische Energieabgabe der Komponenten im PS II jeweils durch Terme mit negativem Vorzeichen berücksichtigt wurde, wird im PS I hingegen die photochemische Energieaufnahme aus dem PS II als Term mit negativem Vorzeichen angesetzt. Konkret bedeutet das, im Grundmodell vermindert der Elektronenübergang mit k_c sowohl $q(t)$ in Gl. (4.3c) als auch $a(t)$ in Gl. (4.3d) bzw. in der vereinfachten Modellvariante verringert dementsprechend der Übergang mit k_{pc} die jeweils betrachteten Konzentrationen in den Gl. (4.9b und c). Anders als bei den betrachteten Komponenten des PS II wird also für den Akzeptorkomplex A und damit schließlich auch für das PS I nicht die Abgabe, sondern der Empfang von Elektronen als der begrenzende Energieübergang zweiter Ordnung angesehen, welcher lichtinduzierte Reaktionszustände zurücksetzt. Ein derartiges Modell, d.h. die Formulierung des Reaktionsschemas der Abb. 4.1 durch die Gl. (4.3a-d), ist in der vorliegenden Literatur bislang nicht behandelt worden.

4.4 Vergleich mit Modellen aus der Literatur

Ein direkter Vergleich des vorgestellten Grundmodells mit Modellen aus der Literatur ist nicht unmittelbar möglich, da diese in der Regel entweder ein anderes Zeitintervall der Fluoreszenzbetrachtung zugrunde legen oder mit während der Untersuchung speziell ermittelten Parametern operieren [s. Joshi und Mohanty, 1995]. Nachstehend können deshalb nur einige wesentliche Schnittpunkte mit naheliegenden Modellen umrissen werden.

Das Reaktionsschema (Abb. 4.1) ist mit dem von Butler [1978] aufgestellten Schema hinsichtlich der Kopplung von C und P identisch. Maßgeblich unterscheidet sich jedoch die Betrachtung bezüglich der photochemischen Energieweitergabe mit k_p , die von Butler abhängig von einem Parameter ¹ ($0 \leq \alpha \leq 1$) angesetzt wird und den Reaktionszustand des RC II charakterisiert. Nicht zuletzt daher wurden die Bezeichnungen 'geschlossen' mit $\alpha = 0$ für reduzierte RC II und 'offen' mit $\alpha = 1$ für oxidierte RC II abgeleitet.

Den Gln. (4.8a und b) zur Beschreibung des DCMU behandelten Systems entspricht quasi das von Renger et al. [1987] allgemein angegebene Modell, welchem letztlich auch das Reaktionsschema von Butler [1978] zu Grunde liegt, allerdings unter der Voraussetzung, daß $\alpha = 0$ gilt. Aus dem RC II fließen somit keine Ladungen ab und durch die Rückreaktion mit k_t stellt sich F_m ein. Wird nun adäquat ein Term des Elektronenabflusses in Form von $k_p \alpha p$ additiv auf der Seite der Energieumsätze in Gl. (4.8b) berücksichtigt, lassen sich im stationären Fall, d.h. unter den Gleichgewichtsbedingungen: $dc/dt = 0$; $dp/dt = 0$, mit den Näherungen: $C_0 \approx C$; $P_0 \approx P$ sowie $P_0 = 1$ für die Fluoreszenzausbeute Φ_F gemäß Gl. (2.12) mit $F = k_F c$ und $J_{all} = j_a$ folgende Ausdrücke ableiten:

$$\Phi_F = \frac{\Psi_F}{1 - \Psi_T \Psi_t}$$

$$\text{mit } \Psi_F = \frac{k_F}{k_r + k_T}; \Psi_T = \frac{k_T}{k_r + k_T}; \Psi_t = \frac{k_t}{k_t + k_p \alpha / C_0}.$$

Wird ferner in Betracht gezogen, daß die Substitution $k_r = k_F + k_D$ gegeben ist und interne Relaxationen des RC II vernachlässigt wurden, sind diese Ausdrücke mit denen von Renger et al. [1987] konsistent. Ψ_F gibt die Fluoreszenzwahrscheinlichkeit des LHC II an, während Ψ_T und Ψ_t die Wahrscheinlichkeiten für die jeweiligen Exzitonenübertragungen zwischen LHC II und RC II angeben. Der Funktionszustand des Gesamtsystems wird demnach abhängig von der normierten Anzahl offener Reaktionszentren in Form α/C_0 festgelegt. Diese Anzahl wird in dem vorgestellten Grundmodell Gln. (4.3a-d) von vornherein instationär durch eine Zustandsbetrachtung des Chinons Q und entsprechender Folgereaktionen berücksichtigt. Damit sind unter den obengenannten Voraussetzungen die Modelle von Butler [1978] bzw. Renger et al. [1987] betreffs der Kooperation des LHC II mit dem RC II als Grenzfälle prinzipiell in dem Grundmodell Gln. (4.3a-d) mit enthalten.

Diesbezüglich weiterführende Modelle, wie z.B. von Schatz et al. [1988] oder Trissl et al. [1993] lassen sich kaum mit dem vorgestellten Grundmodell vergleichen, da sie sich im Einzel-

¹ Dieser Parameter, hier α genannt, wird in der Originalarbeit vom Autor mit dem Buchstaben A bezeichnet, welcher jedoch in der hier vorliegenden Arbeit bereits den Akzeptorkomplex symbolisiert.

nen ausschließlich mit dem Exzitonentransfer, d.h. mit den sehr schnellen Teilprozessen der Lichtreaktion vor dem Erreichen der Intensität der Grundfluoreszenz F_0 befassen.

Vergleichbar im Hinblick auf eine Abbildung eines Peaks der Fluoreszenzintensität eines dunkeladaptierten Systems durch ein Differentialgleichungssystem sind die Ergebnisse von Christoffers [1987]. Das von ihm vorgeschlagene Reaktionsschema kommt ohne Rückreaktionen aus und liefert offenkundig gute Anfassungen für Beobachtungszeiten im Sekundenbereich. Jedoch läßt es sich nicht ohne weiteres bündig mit dem Konzept des Elektronentransports in der PSU vereinbaren, da es unter Bezugnahme auf die ATP-Synthese angesetzt wurde, womit eine unmittelbare Diskussion bezüglich der Gln. (4.3a-d) nicht möglich ist.

Von Renger und Schulze [1985] wird ferner ein Reaktionsschema durch ein Differentialgleichungssystem angeführt, welches die Übergänge der Gln. (2.8a-c) einschließlich möglicher Rückreaktionen und damit den Anstieg von F_0 auf F_p detailliert behandelt. Um einen optimalen Kurvenfit an die Zwischenniveaus O, I, D, P der Kinetik (Abb. 2.8) zu erreichen, wurde dabei, wie auch in einem von Baake und Schlöder [1991] weiterentwickelten Modell, mit zum Teil zeitabhängigen Koeffizienten gearbeitet. Darauf wurde in dem hier vorgestellten Modell verzichtet, d.h. es wurde an einer Modellierung mit Hilfe von Ratenkonstanten wörtlich festgehalten. Ferner wurden die Sequenzen (2.8a-c), die auch von Stibert und Strasser [1996] numerisch behandelt werden, laut Voraussetzung stark zusammengefaßt, indem die Gln. (4.3b und c) den photochemischen Transport aus dem RC II über PQ durch den einfachen Elektronenübergang von P zu Q mit k_p beschreiben. Die dazugehörige Rückreaktion von Q zu P, die nach Crofts und Wraight [1983] für Gl. (2.8a) möglich ist, wurde unterdessen mit k_q berücksichtigt. Angesichts der zusammengefaßten Übergänge kann durch die Lösungen $c(t)$ der Gln. (4.3a-d) im Unterschied zu den oben genannten Modellansätzen von vornherein nur eine vereinfachte Abbildung des Anstiegs von F_0 auf F_p ohne markante Zwischenniveaus erwartet werden. Solche Lösungen sollten dennoch der eingangs getroffenen Zielsetzung hinsichtlich der Modellierung einer Kurvenschar von Fluoreszenzinduktionskinetiken verschieden adaptierter Algen innerhalb angezeigter Zeitintervalle genügen, was sich im kommenden Abschnitt zeigen wird.

5. Auswertung und Diskussion des Modells

Eine Betrachtung der experimentell ermittelten Kinetiken der Fluoreszenzintensität mit Hilfe des vorgestellten Modells erfordert jetzt, daß das gekoppelte Differentialgleichungssystem (4.3a-d) unter Verwendung entsprechender Parametersätze gelöst wird. Nachfolgend werden zunächst Lösungen dieses Systems qualitativ vorgestellt und dann, nach Anpassung der Parameter, schließlich Lösungen, die quantitativ die experimentellen Ergebnisse wiedergeben. Abschließend wird mittels inverser Schlußweise gezeigt, wie aus Werten der Fluoreszenzemission zugehörige Intensitäten der Vorbelichtung einer Algenpopulation unter Verwendung des Modells berechnet werden können.

5.1 Lösung des Differentialgleichungssystems

Das nichtlineare System gewöhnlicher Differentialgleichungen erster Ordnung mit konstanten Koeffizienten gemäß Gln. (4.3a-d) ließ sich nicht analytisch lösen. Allein die Zahl der Anregungszustände des Chl *a* ungekoppelter LHC II kann als einfachster Fall unmittelbar analytisch berechnet werden. Bis auf die Relaxation der Anregungszustände des Chl *a* mit der Ratekonstante k_r und die Anregung durch die Rate der Lichtabsorption j_a finden dann keinerlei Übergänge statt. Damit läßt sich anhand der Gl. (4.3a) dieser Fall wie folgt beschreiben:

$$dc/dt = j_a(1-c) - k_r c \quad (5.1)$$

mit der Lösung:

$$c = \frac{j_a}{j_a + k_r} \left(1 - e^{-(j_a + k_r)t} \right) \quad (5.2).$$

Für Zeiten $(j_a + k_r)^{-1} \ll t \leq \infty$ ergibt sich $c \approx j_a(j_a + k_r)^{-1}$, wonach $c \sim j_a$, solange $j_a \ll k_r$. Das bedeutet, wenn die Zahl der absorbierten Photonen weit unter dem Sättigungswert bleibt, verhält sich die Konzentration der angeregten Zustände des Chl *a* direkt proportional zur Rate der Lichtabsorption innerhalb des angegebenen Zeitintervalls.

Um Fluoreszenzinduktionskinetiken im Hinblick auf die im Modell berücksichtigten Komponenten der Lichtreaktion uneingeschränkt zu berechnen, müssen nun die gekoppelten Differentialgleichungen (4.3a-d) gelöst werden. Nachfolgend werden entsprechend numerisch ermittelte Ergebnisse vorgestellt.

Im Sinne der mathematischen Formulierung stellen die gekoppelten Gln. (4.3a-d) ein Anfangswertproblem dar, welches sich mit Hilfe eines numerischen Mehrschrittverfahrens lösen ließ. Dazu wurde das kommerzielle Programm MATLAB¹ und ein zugehöriger Lösungsalgorithmus auf einem PC benutzt. Unter verschiedenen Lösungsalgorithmen erwies sich einzig 'ODE15S' als geeignet, das Differentialgleichungssystem mit um mehrere Größenordnungen unterschiedlichen Koeffizienten zu lösen. Es handelt sich dabei um ein von Shampine und Reichelt [1997] dargelegtes Verfahren mit sogenannt quasi konstanter Schrittweitensteuerung der numerischen

¹ Math Works Inc., Natick, MA (<http://www.mathworks.com>)

Differentiation. Für die Berechnung des Differentialgleichungssystems wurden vornehmlich die Grundeinstellungen der Optionen innerhalb des Programmbestandteils 'ODESET', die letztendlich auch die Abbruchbedingungen des Verfahrens festlegen, angewendet.

Anhand eines ausgewählten Parametersatzes, der in Abs. 5.2 noch näher erläutert wird, sind in Abb. 5.1 die numerischen Lösungen des Modells gemäß der Gln. (4.3a-d) für die in Abs. 3.4 bzw. 4.3 unterschiedenen Systemzustände dargestellt, also für:

- tox. - toxisch mit DCMU behandelt gemäß den Gln. (4.8a und b),
- dkl. - dunkeladaptiert gemäß den Anfangsbedingungen (4.4),
- hell - helladaptiert gemäß den Anfangsbedingungen (4.7).

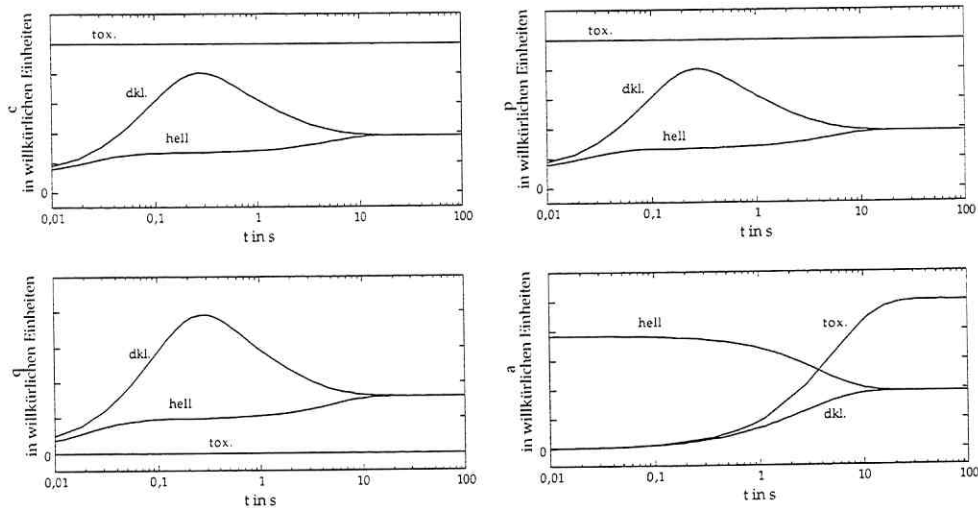


Abb. 5.1. Lösungen $c(t)$; $p(t)$; $q(t)$; $a(t)$ des Differentialgleichungssystems (4.3a-d) für die Fälle der Dunkeladaption, der Helladaption mit $a(t_i) = 2 a_s$ und der toxischen Behandlung für folgenden Parametersatz: $j_a = 0,001 \text{ s}^{-1}$; $n = 100$, mit den Konzentrationen $[C_0] = 100$; $[P_0] = 1$; $[Q_0] = 10$; $[A_0] = 1$ und mit den Konstanten $k_r = 10^7 \text{ s}^{-1}$; $k_T = 10^{10} \text{ s}^{-1}$; $k_i = 10^5 \text{ s}^{-1}$; $k_q = 100 \text{ s}^{-1}$; $k_c = 100 \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,1 \text{ s}^{-1}$ sowie $k_p = 10^4 \text{ s}^{-1}$ bzw. im toxischen Fall $k_p = 0$.

Die Lösungen für die drei verschiedenen Fälle sind jeweils in Abb. 5.1 aufgetragen und geben qualitativ typische Verlaufsformen wieder. Die Kinetiken $c(t)$ weisen die grundsätzlichen Merkmale der Fluoreszenzinduktionskinetiken ähnlich denen der experimentellen Befunde auf. Zum Zeitpunkt $t = 0$ lag in allen drei Fällen gemäß den Anfangsbedingungen des Modells $c(t) = 0$ übereinstimmend mit $F(t) = 0$ in den Experimenten vor. Im Fall der Dunkeladaption zeigt sich deutlich der Peak des Kautsky-Effekts, der unter der Voraussetzung der Helladaption mit $a(t_i) > a_s$ wie erwartet ausbleibt. Beide Verläufe münden in einem gemeinsamen Gleichgewichtswert. Durch die Blockierung des Elektronentransports aus dem RC II mit $k_p = 0$ im Sinne der toxischen DCMU-Behandlung steigt der Wert bereits für $t < 0,01 \text{ s}$ auf den stationären Maximalwert. Im Vergleich unterscheiden sich die Verläufe $p(t)$ und $c(t)$ kaum merklich, was einen schnellen Ausgleich der Exzitonenkonzentration zwischen dem LHC II und dem RC II wiedergibt. Wie in Abs. 4.3 dargelegt, wird für den Fall $k_p = 0$ für $q(t)$ keine Zunahme berechnet. Dieses Ergebnis stellt sich sowohl für die Anfangsbedingungen (4.4) als auch für

(4.7) ein, die diesbezüglich gleichwertig sind. Formal wurde für den Fall der DCMU-Behandlung auch die Lösung $a(t)$ in Abb. 5.1 angegeben, die allerdings, wie bereits anhand der Gln. (4.8a und b) festgestellt, betreffs der Fluoreszenzbetrachtung keine Rolle spielt. Dennoch ist diese Lösung, die unabhängig von $p(t)$ und $c(t)$ ein größtmöglichen Redoxzustand $a(t)$ ausbildet, insofern folgerichtig, da der Akzeptorkomplex nicht reduziert werden kann. Die Lösungen $a(t)$ für die Hell- bzw. Dunkeladaption zeigen Verlaufsformen, bei denen sich ausgehend von den jeweils zugehörigen Anfangswerten ein gemeinsamer Wert des Gleichgewichtsniveaus einstellt. Mit dem Anfangswert $a(t_i) = 2 a_s$ wird die Intensität der Vorbelichtung größer als die des Meßlichts vorausgesetzt. Es ist dieser, die Lichtadaption charakterisierende Startwert $a(t_i)$, der bei einem festen Parametersatz die Bereitschaft zur Elektronenaufnahme durch den Akzeptorkomplex anzeigt. Demzufolge liegt diese Bereitschaft im Fall der Dunkeladaption mit $a(t_0) = 0$ nicht vor, womit es beim Elektronentransport zu einer Art Stau kommt, der einen Konzentrationspeak der Anregungs- bzw. Redoxzustände der übrigen Komponenten auslöst.

Als direkte äußere Einflüsse werden in dem Modell die Anregungsintensität in Form der Rate der Lichtabsorption j_a sowie unterschiedliche Vorbelichtungen der Algen in Form der Anfangsbedingungen berücksichtigt. Diese Einflüsse wirken sich erwartungsgemäß auf die Lösungen $c(t)$ des Systems aus, wie mittels der Beispiele, dargestellt in Abb. 5.2 und 5.3, gezeigt wird.

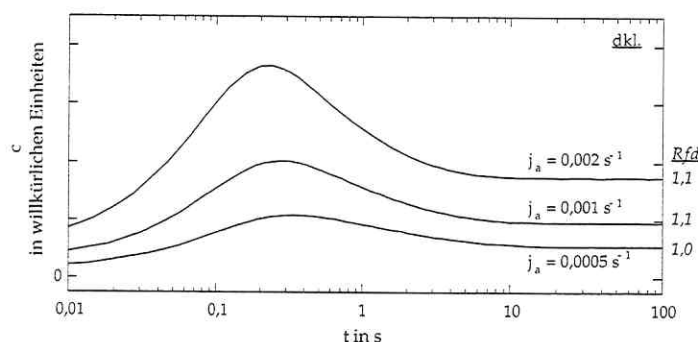


Abb. 5.2. Lösungen $c(t)$ des Differentialgleichungssystems (4.3a-d) im Fall der Dunkeladaption für drei verschiedene Raten der Lichtabsorption j_a unter Verwendung des zu Abb. 5.1 angegebenen Parametersatzes.

Qualitativ übereinstimmend mit den experimentellen Befunden ließ sich für die Rfd-Werte nach Gl. (2.10) auch im Modell keine direkte Abhängigkeit von der Rate der Lichtabsorption feststellen. Ebenso entspricht die Verringerung der zum Peak c_p gehörenden Zeit t_p für zunehmende Raten j_a den experimentellen Ergebnissen (s. Abs. 3.4).

Ohne grafische Darstellung sei ferner vermerkt, daß sich im Fall der toxischen DCMU-Behandlung anhand des Modells $c_m \sim j_a$ für $t > 0,01$ s ergibt, vergleichbar mit $F_m \sim I_{A0}$ in den Experimenten. Sinnvoll erscheint diese Tatsache schon allein deshalb, weil das angeregte PS II anfänglich Ladungen aus dem OEC aufnehmen kann, die es dann durch die DCMU-Blockierung mit $k_p = 0$ nicht mehr abgibt. Damit muß die aufgenommene Lichtenergie gemäß der Energieerhaltung Gl. (2.1) verstärkt über Wärme und Fluoreszenz freigesetzt werden.

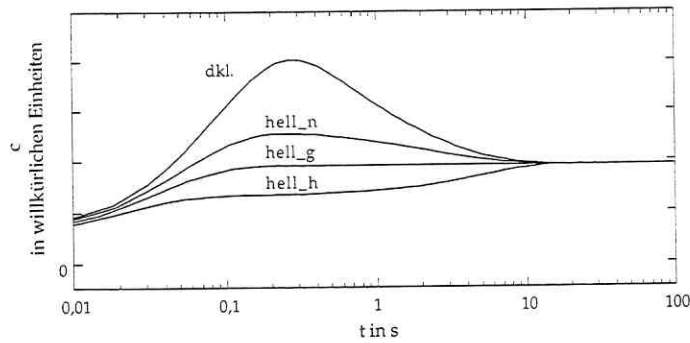


Abb. 5.3. Lösungen $c(t)$ des Differentialgleichungssystems (4.3a-d) für die Fälle der Dunkeladaption, d.h. mit $a(t_i) = 0$ sowie verschiedener Helladaptionen: hell_h mit $a(t_i) = 2 a_s$, hell_g mit $a(t_i) = a_s$ und hell_n mit $a(t_i) = a_s / 2$, bei $a_s = 0,192$ unter Verwendung des zu Abb. 5.1 gegebenen Parametersatzes.

Die Anfangsbedingung (4.7) der Helladaptionen, d.h. speziell der Anfangswert $a(t_i)$ bewirkt, wie am Beispiel in Abb. 5.3 deutlich wird, für $0 < a(t_i) < a_s$, d.h. für den Fall hell_n, eine Verminderung des Rfd-Wertes, welcher mit $a(t_i) = a_s$, also im Fall hell_g, verschwindet. Dieses Verhalten geht qualitativ vollkommen mit den Verlaufsformen der experimentell ermittelten Kinetiken $F(t)$ bei jeweiligen Vorbelichtungen einher. Ebenso stimmen Modell und Experiment im Fall hell_h, d.h. mit $a(t_i) > a_s$ bzw. $I_{V0} > I_{A0}$, überein.

Werden allgemein Einflüsse von Parametervariationen auf die berechnete Kinetik $c(t)$ eines dunkeladaptierten Systems betrachtet, wird die komplexe Eigenschaft der Kopplung der Gln. (4.3a-d) u.a. besonders daran deutlich, daß der Verlauf $c(t)$ von der Setzung der einzelnen Modellparameter abhängig ist. Als Beispiel wird in der Tab. 5.1 die sich ändernde Ausbildung des Peaks der Konzentration c_p in Abhängigkeit jeweils einer Parametervergrößerung symbolisch dargestellt.

x	$[C_0]$	$[Q_0]$	$[A_0]$	k_r	k_T	k_t	k_p	k_q	k_c	k_d	n
$c_p(x)$	↖	↘	↙	↖	↘	↖	↘	↖	↙	↗	↙

Tab. 5.1. Symbolisierung der sich ändernden Ausbildung des Konzentrationspeaks $c_p(x)$ bei Vergrößerung des jeweiligen Parameters x . Eine Konzentrationserhöhung bzw. -verminderung für $c_p(x)$ wird durch die Aufwärts- bzw. Abwärtsrichtung der Pfeile angezeigt, während die Zeitverlagerung des Maximums zu kleineren bzw. größeren Zeiten durch die Links- bzw. Rechtsneigung der Pfeile angegeben ist. Die Parameter wurden außerhalb der aufgeführten Variation so beibehalten, wie zu Abb. 5.1 angegeben.

Zusätzlich lassen sich auch vergleichbarer Berechnungen für das vereinfachte Differentialgleichungssystem Gln. (4.9a-c) anführen. Wie bereits in Abs 4.3 diskutiert, läßt sich auch mit diesem System, wie die berechneten Kinetiken in Abb. 5.4 zeigen, ein wesenseigener Peak der Kinetik im Fall der Dunkeladaption darstellen. Allerdings setzt der Anstieg auf c_p deckungsgleich mit dem Anstieg auf c_m ein¹. Da durch die Gln. (4.9a-c) der Fall der toxischen DCMU-Behandlung nicht getreu den experimentellen Befunden berechnet werden kann, bietet dieses Gleichungssystem keine hinreichende Alternative zu dem System der Gln. (4.3a-d).

¹ Im eigentlichen Modell, mit den Gln. (4.3a-d), ist dieser theoretische Fall, der einer andersartigen toxischen Behandlung entspricht, durch die Darstellungsmöglichkeit $k_c = 0$ mit enthalten.

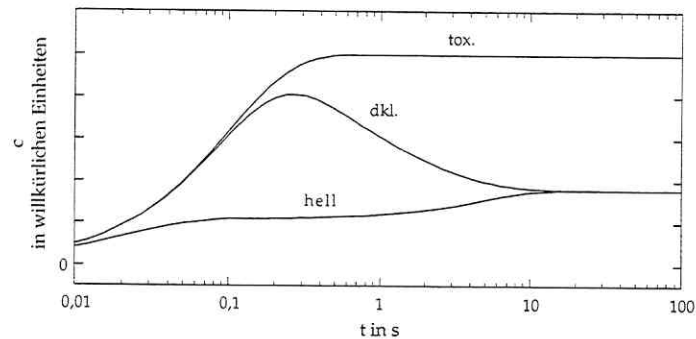


Abb. 5.4. Lösungen $c(t)$ des vereinfachten Differentialgleichungssystems (4.9a-c) für die Fälle der Dunkeladaptation, der Helladaptation mit $a(t) = 2 a_s$ und der DCMU-Behandlung bei folgendem Parametersatz: $j_a = 0,001 \text{ s}^{-1}$; $n = 100$; $[C_0] = 100$; $[P_0] = 1$; $[A_0] = 1$; $k_r = 10^7 \text{ s}^{-1}$; $k_T = 10^{10} \text{ s}^{-1}$; $k_i = 100 \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,1 \text{ s}^{-1}$ und $k_{pc} = 100 \text{ s}^{-1}$ bzw. im Fall der DCMU-Behandlung $k_{pc} = 0$.

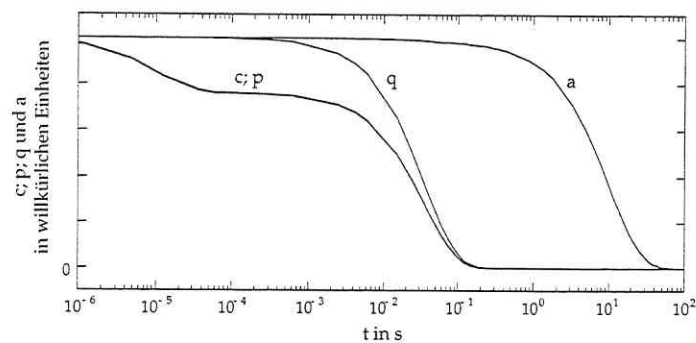


Abb. 5.5. Lösungen des Differentialgleichungssystems (4.3a-d) normiert auf den jeweiligen Maximalwert für $j_a = 0$ bei zu Abb. 5.1 gegebenem Parametersatz. Die Anfangswerte entsprechen den Gleichgewichtswerten d.h. den Werten c ; p ; q und a bei $t > 20 \text{ s}$ in Abb. 5.1 für den Fall der Dunkel- bzw. Helladaptation.

Schließlich wurden die Gleichgewichtswerte für c , p , q und a aus den Kinetiken in Abb. 5.1 als Anfangswerte einer Folgerechnung mit $j_a = 0$ benutzt. Dies entspricht einem abrupten Belichtungsende und dokumentiert das zugehörige Abklingverhalten der Konzentrationen von Anregungs- bzw. Redoxzuständen der betrachteten Komponenten bei Dunkelheit. Die entsprechenden Lösungen sind in Abb. 5.5 dargestellt. Wie in Abs. 4.3 diskutiert, gehen die Konzentrationen $c(t)$, $p(t)$ und $q(t)$ verhältnismäßig schnell ($t < 1 \text{ s}$) in den Grundzustand gemäß Gl. (4.4) zurück, während $a(t)$ erst nach $t > 10 \text{ s}$ in den Grundzustand zurückkehrt. Bedingt durch die Ratenkonstante k_d werden die lichtinduzierten Reaktionszustände des Akzeptorkomplexes A langsamer zurückgesetzt.

5.2 Parameterauswahl

Praktisch wurden zuerst Parameter gewissermaßen willkürlich angenommen, um eine qualitative Darstellung des Meßkurvenverlaufs mit Hilfe des Modells zu ermöglichen. Dabei orientierten sich die angestellten Überlegungen selbstverständlich an Werten aus der Literatur, wie sie im Abs. 2.3.2 und Abs. 2.3.3 beispielsweise durch Zeiten für die einzelnen Reaktionen zwischen den Komponenten zitiert sind. Da Konzentrationen der Redoxkomponenten und Ratenkonstanten bzw. Übergangszeiten für das konkrete Zellmaterial nicht bekannt waren, wurden diese Werte, soweit möglich aus der Literatur herangezogen. Nach Whitmarsh [1998] können diese Literaturdaten innerhalb gewisser Toleranzen für eukaryotisches Zellmaterial zugrunde gelegt werden.

In dem ausgewählten Parametersatz, der den Berechnungen in Abs. 5.1 zugrunde lag, wurde sich bereits weitestgehend nach den Größenordnungen von Werten aus der weiter unten angegebenen Literatur gerichtet. Wie in Abs. 2.3.3 zitiert, sei jedoch daran erinnert, daß die PSU allein schon ein Modell darstellt, denn die Lichtreaktion selbst legt im Augenblick ihres Geschehens eine PSU fest, die sich aufgrund zweidimensionaler Diffusionsprozesse innerhalb der Thylakoidmembran nicht jedesmal aus ein und denselben Komponenten aufbauen muß. In dieser Hinsicht stellen Parameter schon innerhalb der Membran Mittelwerte dar.

Konkret gehen einige Abschätzungen von Ratenkonstanten auf den Kehrwert der angegebenen Zeiten adäquater Übergänge zurück, so k_T auf Gl. (2.7c), k_p auf Gl. (2.8a) und k_c auf Gl. (2.8c). Die Konstante k_r setzt sich, wie in Abs. 4.2 vorausgesetzt, als Summe der Ratenkonstanten der Dissipation k_D und der Fluoreszenz k_F zusammen und wurde in der Größenordnung aus der Literatur übernommen [s. z.B. Weis und Berry, 1987]. Zu den Ratenkonstanten der Rückreaktionen k_i und k_q waren keine direkt übertragbaren Angaben bekannt¹. Sie wurden kleiner als die Ratenkonstanten der zugehörigen Hinreaktionen abgeschätzt.

Als rein modellspezifische Parameter wurden der Proportionalitätsfaktor n und die Ratenkonstante k_d eingeführt. Der Faktor n , welcher die Rate der Lichtabsorption j_a des PS II auf das PS I bezieht, wurde zunächst in der Größenordnung gleich dem Betrag der Konzentration C_0 gewählt. Die Konstante k_d , die sämtliche Rückreaktionen des Akzeptorkomplexes A zusammenfaßt, wurde hinsichtlich der im Folgeabschnitt vorgestellten Modellierung variiert. Sie mußte nach den in Abs. 4.2 getroffenen Annahmen stets wesentlich kleiner als alle übrigen Ratenkonstanten sein, um mit Gl. (4.6) ein langsames Abklingverhalten helladaptierter Systemzustände bei Eintreten von $j_a = 0$ zu gewährleisten.

Die Konzentrationen der Komponenten in einer PSU werden gemeinhin auf das RC II bzw. P_{680} oder Q_A bezogen, weshalb auch im dargelegten Modell grundsätzlich mit $[P_0] = 1$ gearbeitet wurde. Naturgemäß stellen sich Schwankungsbreiten in den Konzentrationsverhältnissen der Komponenten untereinander durch die Existenzbedingungen ein. So ergeben auch die in Abs. 2.2.2 erwähnten kurz- bis mittelfristigen Lichtadaptionen Änderungen in diesen Konzentrationsverhältnissen, wie z.B. Untersuchungen von Neale und Melis [1991] sowie Pfannschmidt et al. [1999] belegen. Im vorliegenden Modell wurde angelehnt an diese Literaturdaten zunächst mit $[C_0] = 100$ und $[A_0] = 1$ gerechnet, Konzentrationen, die dann später zur artspe-

¹ Eine Ratenkonstante k_i wird verschiedentlich, wie von Butler [1978] eingeführt, für die Rückreaktion von P_{680} zu C angegeben. Da es sich im dargelegten Modell bei der Komponente P im weitesten Sinne um RC II handelt und demnach neben P_{680} auch Pheo sowie Q_A einschließt, kann der in der Literatur angegebene Übergang nicht geradewegs mit dem im Modell formulierten Übergang verglichen werden.

zifischen Anpassung der Modellkurven an die gemessenen Kinetiken $F(t)$ innerhalb der typischen Schwankungsbreiten variiert wurden. Eine Variationsbreite zwischen 5 und 20 geben beispielsweise Falkowski und Raven [1997] für die Konzentration von PQ zu P_{680} an, wobei in den folgenden Modellrechnungen $[Q_0] = 18$ als vergleichbare Konzentration unveränderlich festgelegt wurde.

Im unmittelbaren Zusammenhang mit der Messung stellen sich die Rate der Lichtabsorption j_a als zentraler Eingangsparameter des Modells und die Anfangsbedingungen dar. Letztere resultieren gewissermaßen aus dem Modell selbst für die in Abs. 3.4 bzw. 4.3 eingeführte intermediäre Dunkelzeit t_i . Da sich die Anfangskonzentration a_0 zur Berechnung von $a(t_i)$ gemäß Gl. (4.7) als Gleichgewichtswert a_s der vorangegangenen Belichtungsphase verstehen läßt, kann eben mittels des Modells erst a_0 und damit $a(t_i)$ angegeben werden.

In der Literatur wird häufig allein die auf die Probe treffende Intensität beziffert, die sich jedoch nach Gl. (2.5) wesentlich von der Rate der Lichtabsorption J_a unterscheiden kann. Die Rate j_a , die im Modell die meßspezifische Eingangsgröße darstellt und in Abs. 4.1 durch die Annahme (4a) als Rate der Lichtabsorption des PS II mit $j_a \sim J_a$ verträglich mit Gl. (2.12) formuliert wurde, ließ sich nun unter Verwendung der ermittelten Chl-*a*-Gehalte (Abs. 3.2) und der spektralen Befunde (Abs. 3.4 bzw. Abs. 3.5) probenspezifisch abschätzen. Dazu wurden folgende vereinfachende Annahmen getroffen:

- (i) Für die Meßanordnung der Fluoreszenzinduktionskinetik existiert innerhalb der Meßküvette ein Anregungszentrum identisch mit dem Beobachtungszentrum, welches durch den Schnittpunkt der optischen Achsen des Anregungs- und Beobachtungsstrahlengangs gekennzeichnet ist.
- (ii) Akzessorische Pigmente werden nicht berücksichtigt.
- (iii) Chl *a* wird als homogen in der Probe verteilt betrachtet.

Gemessen wurde zunächst die Anregungsintensität $I_{A0}(\lambda)$, welche auf die Probe auftrifft (Abb. 5.6). Die Schwächung der Intensität $I_{A0}(\lambda)$ bis zum Anregungszentrum ergibt gemäß Gl. (3.1) die Anregungsintensität $I_{A1}(\lambda)$ im Zentrum der jeweiligen Proben anhand der in Abb. 3.2 und Abb. 3.11 dargestellten Attenuationskoeffizienten $c(\lambda)$ bei einer Schichtdicke von $z = 0,005$ m. Nunmehr liegen sowohl die Absorptionskoeffizienten $a(\lambda)$ der Proben, angegeben in den Abb. 3.4 und Abb. 3.11, als auch die konkreten Intensitäten der Photonenbestrahlung in Form von $I_{A1}(\lambda)$ vor. Daraus wurde zunächst das Produkt $a(\lambda) I_{A1}(\lambda)$ gebildet (Abb. 5.6), um dann per Integration über die Wellenlänge die Rate der Lichtabsorption J_a laut Gl. (2.5) zu ermitteln (Tab. 5.2).

Probe	J_a in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	J_a^* in s^{-1}
<i>G-Sc</i>	442	0,17
<i>G-Ch</i>	516	0,26
<i>B-Cy</i>	128	0,21
<i>Elbe</i>	124	0,99

Tab. 5.2. Raten der Lichtabsorption J_a für verschiedene Proben hinsichtlich der in Abs. 3.4 und Abs. 3.5 dargestellten kinetischen Untersuchungen mit $I_{A0} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Die spezifischen Raten der Lichtabsorption J_a^* beziehen sich auf die molaren Konzentrationen des Chl *a*, angegeben in Tab. 3.1 bzw. zu Abb. 3.11.

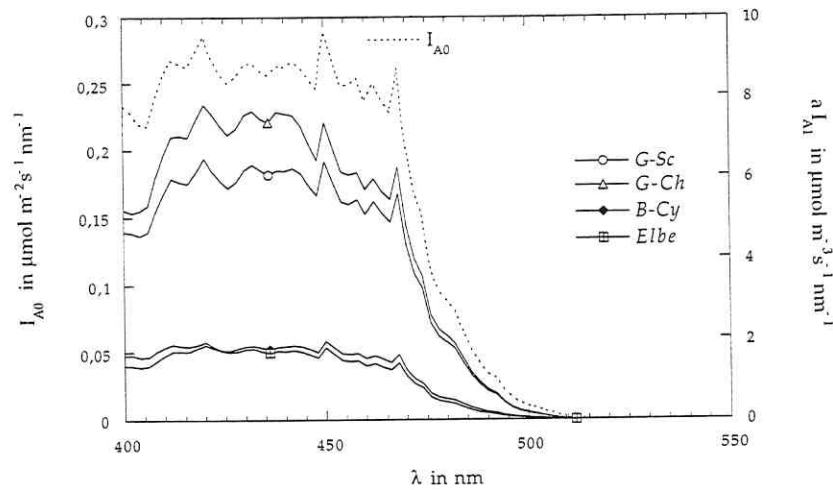


Abb. 5.6. Anregungsintensität $I_{A0}(\lambda)$ mit $I_{A0} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (linke Ordinate, gestrichelte Kurve) und Produkte aus den jeweils probenspezifisch geschwächten Anregungsintensitäten I_{A1} und den zu den Proben gehörigen Absorptionskoeffizienten a (rechte Ordinate, durchgezogene Kurven).

Der Bezug von J_a der jeweiligen Proben auf die zugehörigen molaren Chl-*a*-Konzentrationen ergibt nun entsprechende molekularspezifische Raten der Lichtabsorption J_a^* , wie in Tab. 5.2 aufgelistet. Eingedenk der vereinfachenden Annahmen (ii und iii) läßt sich folgern, daß $J_a^* \gg j_a$ gelten muß. Einesteils ist nämlich die tatsächliche Menge aller an der Lichtreaktion beteiligten Pigmente weitaus größer als die Menge des in Betracht gezogenen Hauptpigments Chl *a* und andernteils sind die Pigmente keineswegs gleich verteilt, sondern unterliegen aufgrund realer Zellstrukturen erheblichen Selbstabschattungseffekten [s. z.B. Falkowski und Kiefer, 1985]. Alles in allem wurde abgeschätzt, daß $F(t)$ auf die Rate der Lichtabsorption j_a zurückgeht, die um etwa drei Größenordnungen kleiner als J_a^* sind. In den sich anschließenden Modellierungen wurden die Verhältnisse der probenspezifischen Raten J_a^* untereinander als Orientierung für die Festlegung der jeweiligen Raten j_a benutzt.

Mittels Variation der im Modell verwendeten Ratenkonstanten und Konzentrationen über einen definierten Bereich wurde versucht, die Summe der Abstandsquadrate zwischen Meßkurve und errechneter Kurve hinsichtlich optimaler Modellparameter zu minimieren. Dieses Verfahren bewährte sich jedoch nur ungenügend, da sich Auslöschungseffekte positiver und negativer Flächen einstellten und sich signifikante Punkte in den Kinetiken F_s und F_p nur gleichrangig zu allen übrigen Werten berücksichtigen ließen. Ein diesbezüglich weiterführendes Verfahren wird in der Literatur von Baake und Schlöder [1991] betreffs eines Modells mit zeitabhängigen Koeffizienten vorgestellt. Im Fortgang der hier vorliegenden Arbeit wurden die Parameter durch Probieren im Sinne von Rechnen, Vergleichen und Ändern angepaßt, ein Vorgehen, das sich durchaus als praktikabel erwies, wie der kommende Abschnitt zeigt.

5.3 Anwendung auf experimentelle Befunde

Die folgenden Darstellungen der Ergebnisse für die betrachteten Algengesamtheiten beruhen auf vorangegangenen postulierten oder experimentell bzw. theoretisch bestätigten Beziehungen: $F(t) \sim c(t)$, $F_m \sim I_{A0}$, $c_m \sim j_a$ und $j_a \sim I_{A0}$ sowie $J_a^* \sim j_a$. Normiert wurden die zu einer Algenart gehörenden Kinetiken auf die jeweiligen stationären Maximalwerte F_m bzw. c_m des toxischen Falls der DCMU-Behandlung. Grundsätzlich war $F(0) = c(0) = 0$ gegeben.

Eine Reihe von Parameterwerten wurde für die anschließend dargelegten Modellrechnungen unverändertlich, d.h. unabhängig von der Algenart wie folgt beibehalten: die Ratenkonstanten $k_r = 2 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$; $k_T = 5 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$; $k_i = 10^5 \text{ s}^{-1}$; $k_q = 85 \text{ s}^{-1}$; $k_c = 100 \text{ s}^{-1}$; $k_p = 2 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$ bzw. im toxischen Fall $k_p = 0$; die Konzentrationen $[P_0] = 1$ und $[Q_0] = 18$ sowie der Faktor $n = 120$. Zur Anpassung der modellierten Kinetiken an gemessene Intensitätsverläufe der Fluoreszenz in bezug auf die Spezies wurden demnach folgende Größen variiert: die Rate der Lichtabsorption j_a , die Ratenkonstante k_d und die Konzentrationen $[C_0]$ sowie $[A_0]$.

Im weiteren werden sowohl gemessene als auch mit dem Modell berechnete Werte in den Abbildungen mit $F(t)$ bezeichnet, wobei die Kennzeichnung verschiedener Vorbehandlungen gemäß Abs. 3.4 fortgesetzt wird.

5.3.1 Berechnungen von Kinetiken

Den folgenden Abbildungen liegen die in Abs. 3 vorgestellten Messungen zugrunde. Die Modellkurven wurden jeweils nur an die Kinetik der dunkeladaptierten Spezies gefittet. Anhand des Fits und der definierten Vorbehandlungen ließen sich alle übrigen Kurven berechnen.

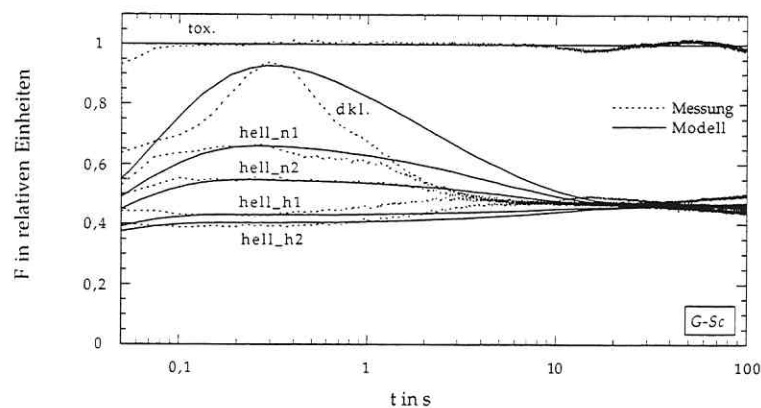


Abb. 5.7. Berechnete und gemessene Kinetiken der Spezies *Scenedesmus acuminatus* des grünen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaption und vier verschiedener Helladaptionen. Die Helladaptionen beziehen sich auf: hell_n1 mit $I_{V0} = I_{A0} / 4$, hell_n2 mit $I_{V0} = I_{A0} / 2$ sowie hell_h1 mit $I_{V0} = 3 I_{A0} / 2$ und hell_h2 mit $I_{V0} = 2 I_{A0}$. Die spezifischen Modellparameter betrugen $j_a = 2 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,08 \text{ s}^{-1}$ und $[C_0] = 160$ sowie $[A_0] = 1,7$.

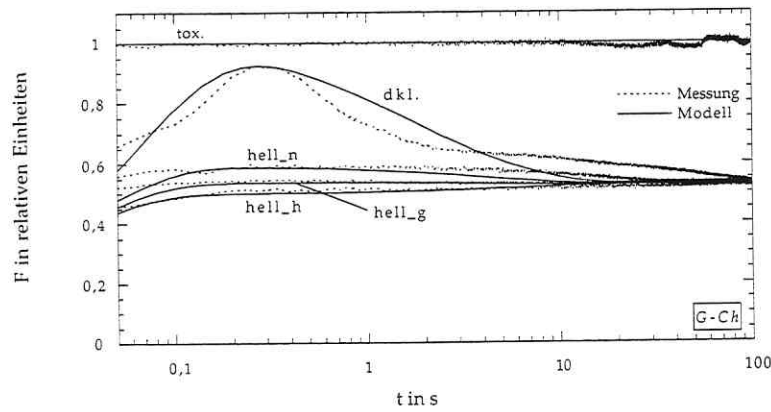


Abb. 5.8. Berechnete und gemessene Kinetiken der Spezies *Chlorella vulgaris* des grünen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaption und drei verschiedener Helladaptionen. Die Helladaptionen beziehen sich auf: hell_n mit $I_{V0} = I_{A0} / 2$, hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$ sowie hell_h mit $I_{V0} = 2 I_{A0}$. Die spezifischen Modellparameter betrugen $j_a = 2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,06 \text{ s}^{-1}$ und $[C_0] = 175$ sowie $[A_0] = 1,1$.

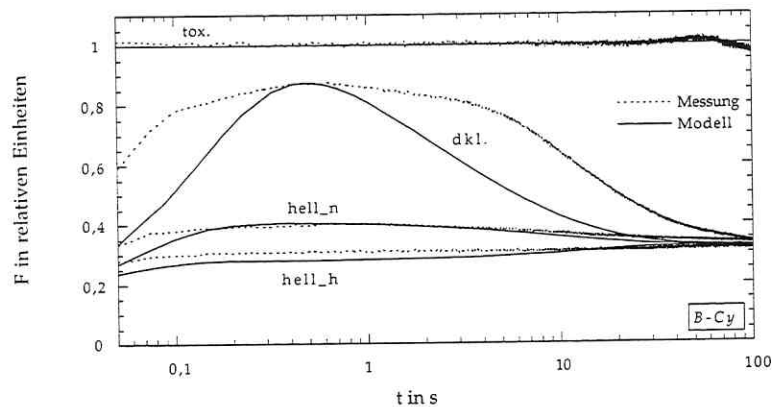


Abb. 5.9. Berechnete und gemessene Kinetiken der Spezies *Cyclotella meneghiniana* des braunen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaption und zwei verschiedener Helladaptionen. Die Helladaptionen beziehen sich auf: hell_n mit $I_{V0} = I_{A0} / 2$ sowie hell_h mit $I_{V0} = 2 I_{A0}$. Die spezifischen Modellparameter betrugen $j_a = 2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,04 \text{ s}^{-1}$ und $[C_0] = 75$ sowie $[A_0] = 0,9$.

Wie in den Abbildungen 5.7 bis 5.9 deutlich wird, lag die Ausrichtung der Kurvenanpassung für den dunkeladaptierten Fall vor allem darin, den Peak der Fluoreszenzintensität F_p sowie den Gleichgewichtswert F_s und somit den Wert des Rfd gemäß Gl. (2.10) möglichst genau wiederzugeben. Ferner konnte auch der zu F_p gehörende Zeitpunkt t_p eindeutig abgebildet werden. Die Abweichungen der mit dem Modell ermittelten Werte von den in Tab. 3.2 angegebenen Werten aus den Messungen sind allesamt geringer als 3%. Entsprechend der Gln. (4.8a und b), d.h. mit $k_p = 0$, ergaben sich mit dem Modell die Werte für den Fall der toxischen DCMU-Behandlung übereinstimmend mit den Ergebnissen F_m aus den Messungen. Für die Berechnung der Kinetiken helladaptierter Proben wurden die Verhältnisse I_{V0} / I_{A0} benutzt. Gemäß

Abs. 5.2 gilt für Betrachtungen einer konkreten Gesamtheit jeweilig $I_{A0} \sim j_a$, da von konstanten optischen Koeffizienten und einem stabilen Chl-*a*-Gehalt der Gesamtheit im Verlauf der Meßserien ausgegangen wurde. So ließen sich dann Rechnungen mit Raten j_a ausführen, die den Vorbelichtungen entsprachen. Daraus resultierten die Gleichgewichtswerte a_s , die als a_0 in die Anfangsbedingungen (4.7) eingingen und in Verbindung mit k_d und t_i die entsprechenden Anfangswerte $a(t_i)$ der Helladaption lieferten. Die auf diesem Weg ermittelten Kurven geben sowohl qualitativ als auch quantitativ den wesentlichen Einfluß der Lichtadaption auf Kinetiken der Fluoreszenzintensität innerhalb des vorab definierten Zeitintervalls wieder.

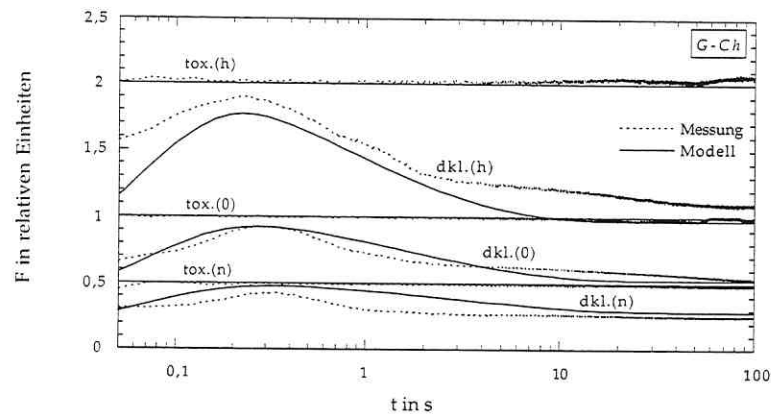


Abb. 5.10. Berechnete und gemessene Kinetiken der Spezies *Chlorella vulgaris* des grünen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung und der Dunkeladaption bei verschiedenen Intensitäten I_{A0} bzw. Raten j_a . Den Kurven entsprechen Untersuchungen bei Anregungsintensitäten, markiert durch (h): 200%, (0): 100% und (n): 50%, wobei der Rate $j_a = 2 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ bzw. der Intensität $I_{A0} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 100% entsprechen. (Spezifische Modellparameter sonst wie zu Abb. 5.8 angegeben.)

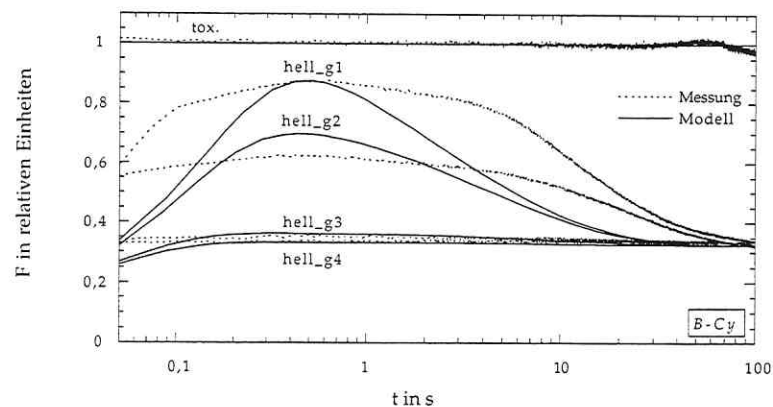


Abb. 5.11. Berechnete und gemessene Kinetiken der Spezies *Cyclotella meneghiniana* des braunen Zweigs für die Fälle der toxischen Vorbehandlung und verschiedener Helladaptionen hell_g mit $I_{V0} = I_{A0}$, die sich auf variierte Zeiten t_i der intermediären Dunkeladaption beziehen. Dabei stehen g1 für $t_i = 1200 \text{ s}$, g2 für $t_i = 50 \text{ s}$, g3 für $t_i = 5 \text{ s}$ und g4 für $t_i = 1 \text{ s}$. (Spezifische Modellparameter wie zu Abb. 5.9 angegeben.)

Auch die erweiterten kinetischen Untersuchungen aus Abs. 3.4 ließen eine fortgesetzte Berechnung mit Hilfe des Modells prinzipiell problemlos zu, wie in Abb. 5.10 und Abb. 5.11 dargestellt. Allerdings werden hier auch Ungenauigkeiten deutlich, die auf Grenzen des Modells hinweisen. Da von einem stark vereinfachten Reaktionssystem zur Charakterisierung der lichtinduzierten Vorgänge in der PSU ausgegangen wurde, mußte zwangsläufig aufgrund der Vernachlässigung zahlreicher Reaktionsschritte und -möglichkeiten mit einer eingeschränkten Abbildung der Fluoreszenzinduktionskinetiken gerechnet werden (s. Abs. 4.1). Unter dem Aspekt dieser Voraussetzungen wurden die Abweichungen zwischen gemessenen und berechneten Kurven hingenommen, so, wie letztlich auch von vornherein ein Zeitintervall der Modellierung festgelegt und die Anpassung der Modellkurven auf die Rfd-Werte ausgerichtet wurde.

Abschließend zeigt Abb. 5.12 die Kurvenanpassung an die Kinetiken einer natürlichen Population, in der Algen des grünen und braunen Zweigs vorkamen. Diese Anpassung liefert im Folgeabschnitt den Ausgangspunkt, aus In-vivo-Fluoreszenzdaten mit Hilfe des Modells auf Belichtungen der untersuchten Population im Gewässer zu schließen.

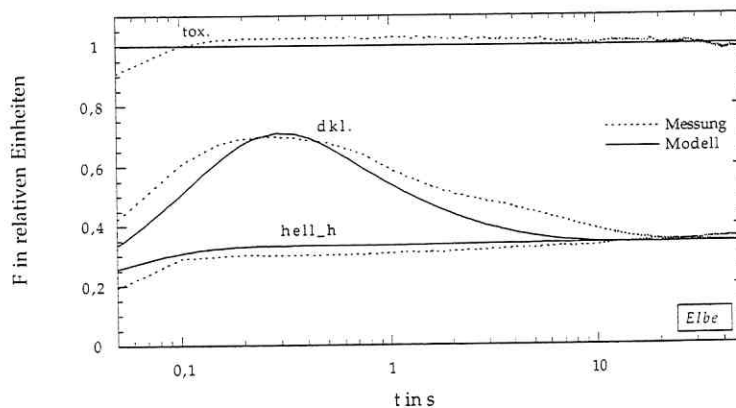


Abb. 5.12. Berechnete und gemessene Kinetiken der Algenpopulation des Elbewassers am 14.08.1996 für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaption und einer Helladaption. Die Helladaption hell_h bezieht sich auf $I_{V0} = 2 I_{A0}$. Die spezifischen Modellparameter betrugen $j_a = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,08 \text{ s}^{-1}$ und $[C_0] = 75$ sowie $[A_0] = 0,65$.

5.3.2 Folgerung am Beispiel

Wie eingangs der Arbeit angeführt, wurde ein Modell gesucht, welches den Zusammenhang zwischen den Intensitäten der Fluoreszenz $F(t)$ und der Vorbelichtung eukaryotischer Algen wiedergibt. Die in den Abbildungen 5.7 bis 5.12 dargestellten Lösungen des Differentialgleichungssystems gemäß der Gln. (4.3a-d) dokumentieren bereits, daß ein derartiges Modell zweckmäßig formuliert werden konnte. Allerdings waren dabei die Intensitäten der Vorbelichtungen jeweils ausgewiesen. Im folgenden Beispiel hingegen steht nun eine Algenpopulation im Mittelpunkt der Betrachtung, deren unmittelbare Vorbelichtungsintensität quantitativ nicht bekannt war.

Für die Algenpopulation der Elbe am 14.08.1996, Stromkilometer 318 liegen Befunde zur Chl-*a*-Konzentration, zu den Koeffizienten der Attenuation und der Absorption sowie eine Analyse der Fluoreszenzinduktionskinetik vor, wie in Abs. 3.5 dargelegt. Wie ebenda beschrieben, wurde ferner die in Abhängigkeit von der Tageszeit gemessene In-vivo-Fluoreszenzemission auf die relativen Intensitäten der Fluoreszenzinduktionskinetiken bezogen. Auf die Intensität der Vorbelichtung I_{V0} , der die Algenpopulation vor der Untersuchung der In-vivo-Fluoreszenz im Gewässer ausgesetzt war, ließ sich nun mit Hilfe des Modells invers schließen.

Zunächst wurde unter Verwendung des Parametersatzes, der sich aus der Kurvenanpassung der Algenpopulation entsprechend Abb. 5.12 ergab, eine Kurvenschar von Kinetiken für verschiedene Raten der Lichtabsorption j_a berechnet. Daraus resultierten Gleichgewichtswerte a_s .

Entsprechend Gl. (4.7) lieferten diese Werte a_s die Anfangswerte $a(t_i)$ hinsichtlich einer Folgebetrachtung¹. Die verwendeten Raten der Lichtabsorption j_a , die diesen Anfangswerten $a(t_i)$ zugrunde lagen, ließen sich demgemäß fortan als Absorptionsraten der Vorbelichtung j_v verstehen. Somit existierte eine eindeutige Zuordnung zwischen den Anfangswerten $a(t_i)$ und den quasi willkürlich gewählten Absorptionsraten der Vorbelichtung j_v in Form von Wertepaaren $\{a(t_i); j_v\}$ für den vorliegenden Fall.

Für die Rate der Lichtabsorption² der In-vivo-Fluoreszenzmessung $j_a = 3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ wurden die Gln. (4.3a-d) unter Berücksichtigung der bekannten Wertepaare $\{a(t_i); j_v\}$ erneut gelöst, wie anhand ausgewählter Beispiele in Abb. 5.13 dargestellt.

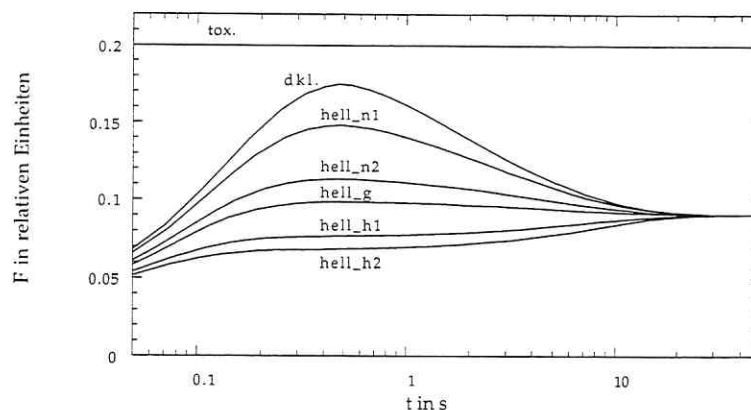


Abb. 5.13. Berechnete Kinetiken der Algenpopulation des Elbewassers am 14.08.1996 für die Fälle der toxischen Vorbehandlung, der Dunkeladaptation und verschiedener Helladaptation. Die Helladaptation bezieht sich auf hell_n1 mit $j_v = 1,5 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; hell_n2 mit $j_v = 1,5 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; hell_g mit $j_v = 3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; hell_h1 mit $j_v = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; hell_h2 mit $j_v = 1,5 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$. Die spezifischen Modellparameter betragen $j_a = 3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$; $k_d = 0,08 \text{ s}^{-1}$ und $[C_0] = 75$ sowie $[A_0] = 0,65$.

¹ Da sich diese Folgebetrachtung auf die In-vivo-Fluoreszenzmessung bezieht, wurde mit einer nach Abs. 3.5 aus der speziellen Anordnung resultierenden Zeit $t_i = 2,5 \text{ s}$ gerechnet.

² Im konkreten Fall wurde wiederum von $I_{A0} \sim j_a$ anhand der Tagesmittelwerte des Attenuations- sowie Absorptionskoeffizienten und des Chl-*a*-Gehalts ausgegangen (s. Abs. 5.2). Die Anregungsintensität der In-vivo-Fluoreszenzmessung I_{AT} belief sich auf $1/5 I_{A0}$ der kinetischen Messung (s. Abs. 3.5). Aus dem adäquaten Verhältnis der absorbierten Anregungsintensitäten ergibt sich mit $j_a = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ der kinetischen Messung (s. Abb. 5.12) ein $j_a = 3 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ der In-vivo-Fluoreszenzmessung.

Für die Kinetik des helladaptierten Falls $j_v = j_a$ in Abb. 5.13, bei der noch ein schwacher Maximalwert oberhalb des Gleichgewichtswertes zu erkennen ist, sei vermerkt, daß der zugehörige Wert $a(t_i)$ für die intermediäre Dunkeladaptationszeit $t_i = 2,5$ s der Gl. (4.7) zufolge ein einsetzendes Abklingen der Helladaption reflektiert.

Aus den berechneten Kinetiken der Helladaption, wie in Abb. 5.13 für einige Beispiele gezeigt, wurden jetzt gemäß Gl. (3.3) über die der In-vivo-Fluoreszenzmessung zugrunde liegende Beobachtungszeit $0 \leq t \leq 0,5$ s entsprechende Werte F_T integrativ ermittelt¹. Jedem Wert F_T entspricht nun genau ein Wertepaar $\{a(t_i); j_v\}$ und umgekehrt. Dieser Umkehr nach wurden in Abb. 5.14 die Raten der Vorbelichtung j_v in bezug auf die berechneten Werte der Fluoreszenzemission F_T aufgetragen.

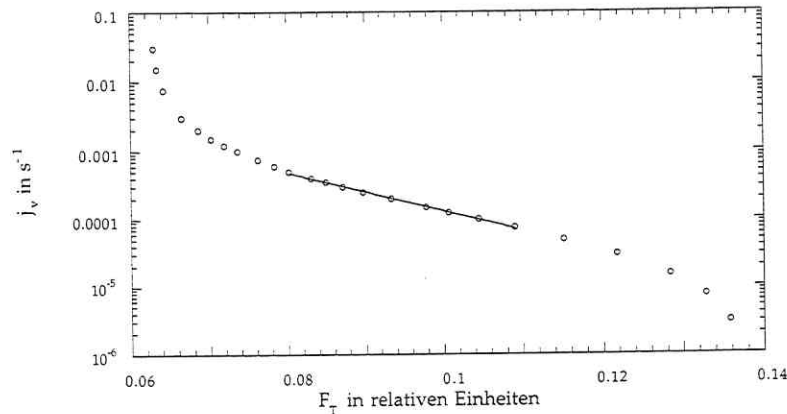


Abb. 5.14. Zusammenhang zwischen berechneten Werten der Fluoreszenzemission F_T und gewählten Raten der Vorbelichtung j_v hinsichtlich der untersuchten Algenpopulation des Elbewassers am 14.08.1996.

Ausgehend vom Wertebereich der In-vivo-Fluoreszenzmessung $0,08 < F_T < 0,11$ in relativen Einheiten (s. Abb. 3.13) ließ sich schließlich mit F_T als Argument gemäß Abb. 5.14 eine Exponentialfunktion zur stetigen Darstellung der Wertepaare $j_v(F_T)$ verwenden. Die dementsprechende Gleichung:

$$j_v = \beta e^{-\gamma F_T} \quad (5.3)$$

ergab anhand der Koeffizienten $\beta = 0,088$ und $\gamma = 65$ betreffs der zehn gegebenen Wertepaare eine Korrelation mit $R > 0,99$.

Die Gl. (5.3) wurde zu guter Letzt auf die normierten Meßwerte der In-vivo-Fluoreszenzemission F_T angewendet. Da die Anregungsintensität der In-vivo-Fluoreszenzmessung $I_{AT} = 4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bzw. die entsprechende Rate $j_a = 3 \cdot 10^{-4} \text{s}^{-1}$ betrug, ergab sich mit der spezifischen Voraussetzung $I_{AT} \sim j_a$ der Proportionalitätsfaktor $\epsilon \approx 13333 \mu\text{mol m}^{-2}$. Dem folgend, ließ sich in Abb. 5.15 die Vorbelichtung, ermittelt aus den Werten F_T , gemäß der Produkte $\epsilon \cdot j_v$ als Intensität I_{V0} der PAR darstellen.

¹ Die berechnete Fluoreszenzkinetik der toxischen Behandlung ergibt für die dazugehörige Integrationszeit sofort einen relativen Wert $F_{TD} = 0,2$ in Übereinstimmung mit dem Meßergebnis (Abb. 3.13).

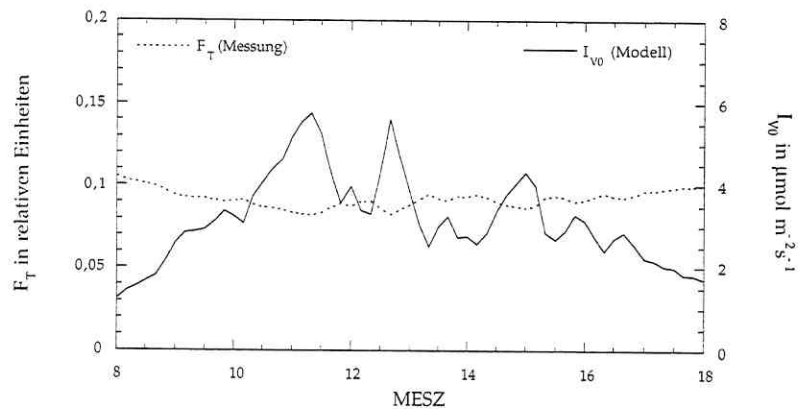


Abb. 5.15. Aus In-vivo-Messungen ermittelte Werte der Fluoreszenzemission F_T und dazugehörig berechnete Vorbelichtungsintensitäten I_{v0} der PAR für die untersuchte Algenpopulation des Elbewassers am 14.08.1996.

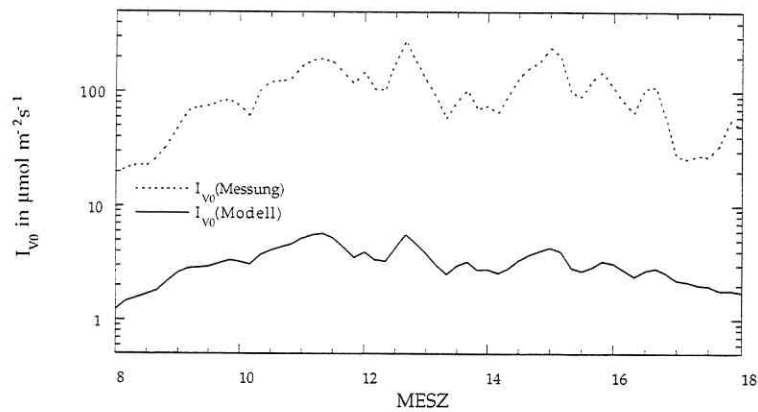


Abb. 5.16. Intensitäten I_{v0} der PAR, einerseits im Tagesverlauf in einer Wassertiefe von 0,2 m per Messung ermittelt, andererseits unter Verwendung des Modells aus F_T bezüglich der untersuchten Algenpopulation der Elbe am 14.08.1996 berechnet (Vgl. Abb. 5.15).

Die Ergebnisse in den Abbildungen 5.15 und 5.16 zeigen, daß aus Werten der Fluoreszenzemission tatsächlich auf Daten der unmittelbaren Vorbelichtung einer untersuchten Algenpopulation mittels des aufgestellten Modells zurückgeschlossen werden kann. Im Vergleich dieser modellierten Vorbelichtungsdaten mit Strahlungswerten, die in einer Wassertiefe von 0,2 m entsprechend der Probenahmetiefe der Fluoreszenzuntersuchungen gemessen wurden, wird deutlich, daß sich die Tagesschwankungen der einfallenden Strahlungsintensität gleichartig für die Vorbelichtung der Algen darstellen. Der mittlere quantitative Unterschied zwischen den beiden Intensitäten verdeutlicht jedoch auch, daß sich die untersuchten Algen vorhergehend keinesfalls ständig in der Probenahmetiefe, sondern eher in einer merklich darunter liegenden, schwächer belichteten Zone aufhielten.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Modell aufgestellt, welches erlaubt, den Zusammenhang zwischen der Fluoreszenzintensität $F(t)$ und vorhergehender Belichtung eukaryotischer Zellen quantitativ zu beschreiben. $F(t)$ geht dabei selbst auf eine konstante Anregungsintensität zurück. Die dem Modell prinzipiell zugrunde liegende photosynthetische Lichtreaktion wurde nach theoretischen Betrachtungen stark vereinfacht angenommen, ohne jedoch das Grundkonzept der photosynthetischen Einheit zu verletzen.

Experimentell wurden an verschiedenen Algenspezies neben den eigentlichen Kinetiken der Fluoreszenzintensität auch zugehörige optische Parameter, wie die Koeffizienten der Absorption und Attenuation, ermittelt. Diese Koeffizienten fanden einschließlich der quantifizierten Chl-*a*-Konzentrationen Verwendung bei der Abschätzung der Raten der Lichtabsorption durch die Photosysteme. Diese Rate spielt als zellspezifische Eingangsgröße im Modell eine zentrale Rolle.

Verschiedene Vorbehandlungen untersuchter Algenproben einer Spezies führten jeweils zu entsprechenden Adaptionszuständen des Zellmaterials. Jeder Adaptionszustand, genutzt als Ausgangssituation für die Messung von $F(t)$, entspricht gleichzeitig einem gewissen Reaktionsvermögen bzw. einem Besetzungsgrad der photosynthetischen Komponenten. Konkret wurde jede Spezies für die Fälle der Dunkel- und Helladaptation sowie der toxischen DCMU-Behandlung untersucht und jeweils eine probenspezifische Kurvenschar von Fluoreszenzinduktionskinetiken aufgenommen.

Diese Fluoreszenzinduktionskinetiken, die sich als eine Art spezielle physiologische Antwort eukaryotischer Zellen auf eine Anregungsintensität verstehen lassen, wurden mit Hilfe eines gekoppelten Differentialgleichungssystems erster Ordnung modelliert. Die Koeffizienten in Form von Ratenkonstanten sowie die Konzentrationen der betrachteten photosynthetischen Komponenten, deren Werte per Größenordnung weitestgehend der Literatur zur Photosynthese entnommen wurden, konnten für die konkreten Betrachtungen soweit angepaßt werden, daß die Mehrzahl der Parameter für sämtliche Spezies Gültigkeit hatten. Allein vier Parameter wurden probenspezifisch variiert, um die Kurvenanpassung an die Kinetik einer jeweilig dunkeladaptierten Probe vorzunehmen.

Im Ergebnis dessen konnten die Modellkurven im qualitativen Verlauf an markante Punkte der gemessenen Fluoreszenzinduktionskinetiken angepaßt werden. Exakt mit jeweils dem gleichen probenspezifischen Parametersatz ließen sich die dazugehörigen Kurven der gemessenen Kinetiken helladaptierter Proben anhand entsprechender Anfangsbedingungen berechnen. Der toxische Fall war mit einer stationären Maximalfluoreszenzintensität durch einen blockierten Übergang zwischen zwei photosynthetischen Komponenten problemlos durch eine Verminderung der angezeigten Ratenkonstante auf den Wert null nachzuvollziehen. Aus den Kurvenanpassungen läßt sich für das gewählte Zeitintervall $10^{-2} \text{ s} < t < 10^2 \text{ s}$ eine hinreichende Gültigkeit des Modells hinsichtlich des gesuchten Zusammenhangs zwischen Intensitäten der Fluoreszenz und der Vorbelichtung feststellen.

Aus den während einer Felduntersuchung ermittelten In-vivo-Fluoreszenzdaten sowie den optischen Koeffizienten und einer Analyse der Fluoreszenzinduktionskinetik wurde mit Hilfe des formulierten Modells auf die Rate der Lichtabsorption und damit auf Vorbelichtungswerte einer Algenpopulation im Gewässer invers geschlossen. Hierdurch konnte abschließend auch die Zweckmäßigkeit des Modells im Feld unterstrichen werden.

7. Literatur

- Albertsson, P.-Å. (1995). The structure and function of chloroplast photosynthetic membrane - a model for the domain organisation. *Photosynth. Res.* 46, 141-149
- Amesz, J.; Vasmel, H. (1986). Fluorescence Properties of Photosynthetic Bacteria. In: Govindjee; Amesz, J.; Fork, D. C. (eds.). *Light Emission by Plants and Bacteria*. pp. 423-450, Academic Press Inc., Orlando
- Angerhofer, A.; Bittl, R. (1996). Radicals and radical pairs in photosynthesis. *Photochem. Photobiol.* 63, 11-38
- Arnon, D. I. (1995). Divergent pathways of photosynthetic electron transfer: The autonomous oxygenic and anoxygenic photosystems. *Photosynth. Res.* 46, 47-71
- Baake, E.; Schlöder, J. P. (1991). Modelling the fast fluorescence rise of photosynthesis. *Bull. Mathemat. Biol.* 54, 999-1021
- Babin, M.; Therriault, J.-C.; Legendre, L.; Condal, A. (1993). Variations in specific absorption coefficient for natural phytoplankton assemblages: Impact on estimates of primary production. *Limnol. Oceanogr.* 38, 154-177
- Baker, N. R.; Bowyer, J. R. eds. (1994). *Photoinhibition of Photosynthesis: From Molecular Mechanisms to the Field*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford
- Barber, J.; Malkin, S.; Tefler, A. (1989). The origin of chlorophyll fluorescence in vivo and its quenching by the photosystem II reaction centre. *Phil. Trans R. Soc. Lond B323*, 227-239
- Berner, T.; Wyman, K.; Dubinsky, Z.; Falkowski, P. G. (1989). Photoadaptation and the 'package effect' in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 25, 70-78
- Briantais, J.-M.; Vernotte, C.; Krause, G. H.; Weis, E. (1986). Chlorophyll *a* Fluorescence of Higher Plants: Chloroplasts and Leaves. In: Govindjee; Amesz, J.; Fork, D. C. (eds.). *Light Emission by Plants and Bacteria*. pp. 539-583, Academic Press Inc., Orlando
- Britt, R. D. (1996). Oxygen Evolution. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*. pp. 137-164, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Büchel, C.; Wilhelm, C. (1993). In vivo analysis of slow chlorophyll fluorescence induction kinetics in algae: Progress, problems and perspectives. *Photochem. Photobiol.* 58, 137-148
- Butler, W. L. (1978). Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 29, 345-378
- Butler, W. L.; Kitajima, M. (1975). Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 376, 116-125
- Casper, J. S. (1974). *Grundzüge eines natürlichen Systems der Mikroorganismen*. Gustav Fischer Verlag, Jena
- Christoffers, D. (1987). Mathematische Analyse von Fluoreszenzinduktionskurven. Computer-simulation. *Arch. Hydrobiol. Beih., Ergebn. Limnol.* 29, 25-35
- Crofts, A. R.; Wraight, C. L. (1983). The electrochemical domain of photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 726, 149-185
- Demming-Adams, B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta* 1020, 1-24
- Diner, B. A.; Babcock, G. T. (1996). Structure, Dynamics, and Energy Conversion Efficiency in Photosystem II. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*. pp. 214-247, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht

- Dring, M. J. (1981).** Chromatic adaption of photosynthesis in benthic marine algae: An examination of its ecological significance using a theoretical model. *Limnol. Oceanogr.* 26, 271-284
- Dubinsky, Z. (1992).** The Functional and Optical Absorption Cross-Sections of Phytoplankton Photosynthesis. In: Falkowski, P. G. and Woodhead, A. D. (eds.). Environmental Science Research, Vol. 43, Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea. pp. 31-45, Plenum Press, New York
- Duysens, L. N. M. (1986).** Introduction to (Bacterio)chlorophyll Emission: A Historical Perspective. In: Govindjee; Ames, J.; Fork, D. C. (eds.). Light Emission by Plants and Bacteria. pp. 3-28, Academic Press Inc., Orlando
- Eberl, U.; Ogrodnik, A.; Michel-Beyerle, E. M. (1994).** Vom Licht zum Leben - Physik der Photosynthese. *Phys. Bl.* 50, 215-220
- Eliseeva, E. L.; Kukushkin, A. K. (1993).** Fluorescence kinetics for two models of light-harvesting matrix organization. *University Physics Bulletin Moscow* 46, 97-100
- Falkowski, P. G.; Kiefer, D. A. (1985).** Chlorophyll *a* fluorescence in phytoplankton: Relationship to photosynthesis and biomass. *J. Plankton Res.* 7, 715-731
- Falkowski, P. G.; Owens, T. G.; Ley, A. C.; Mauzerall, D. (1981).** Effects of growth irradiance levels on the ratio of reaction centers in two species of marine algae. *Plant Physiol.* 68, 969-973
- Falkowski, P. G.; Raven, J. A. (1997).** Aquatic Photosynthesis. Blackwell Science Ltd., Oxford
- Fleming, G. R.; van Grondelle, R. (1994).** The primary steps of photosynthesis. *Physics Today (Feb.)*, 48-55
- Fogg, G. E.; Nalewajko, C.; Watt, W. D. (1965).** Extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Proc. R. Soc. London* 162, 514-534
- Gege, P. (1994).** Gewässeranalyse mit passiver Fernerkundung: Ein Modell zur Interpretation optischer Spektralmessungen. Dissertation, Universität Hamburg
- Geider, R. J.; Osborne, B. A. (1992).** Algal Photosynthesis. Chapman & Hall Inc., New York
- Genty, B.; Harbinson, J. (1996).** Regulation of Light Utilization for Photosynthetic Electron Transport. In: Baker, N. R. (ed.). Advances in Photosynthesis, Vol. 5, Photosynthesis and the Environment. pp. 67-99, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Gieskes, W. W. C. (1991).** Algal Pigment Fingerprints: Clue to Taxon-Specific Abundance and Degradation of Phytoplankton in Seas and Oceans. In: Demers, S. (ed.). Particle Analysis in Oceanography. pp. 61-99, Springer-Verlag, Berlin
- Gordon, H. R.; Voss, K. J.; Kilpatrick, K. A. (1993).** Angular distribution of fluorescence from phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 38, 1582-1586
- Govindjee; Satoh, K. (1986).** Fluorescence Properties of Chlorophyll *b*- and Chlorophyll *c*-Containing Algae. In: Govindjee; Ames, J.; Fork, D. C. (eds.). Light Emission by Plants and Bacteria. pp. 497-537, Academic Press Inc., Orlando
- Gross, E. L. (1996).** Plastocyanin: Structure, Location, Diffusion and Electron Transfer Mechanisms. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). Advances in Photosynthesis, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 413-429, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Günther, G. (1996).** Zeitlich aufgelöstes Trübungs- und Chl-*a*-Fluoreszenzverhalten in der Elbe. In: Prange, A. et al. (Hrsg.): Ökosystem Elbe - Zustand, Entwicklung und Nutzung. S. 415-417, Statusseminar des BMBF (7. Mageburger Gewässerschutzseminar), Budweis
- Harris, G. P. (1980).** The Measurement of Photosynthesis in Natural Populations of Phytoplankton. - In: Morris, I. (ed.). The Physiological Ecology of Phytoplankton. pp. 129-187, Blackwell Science Ltd., Oxford
- Hartmann, K. M. (1982).** Wirkungsspektrometrie. In: Hoppe, W.; Lohmann, W.; Markl, H.; Ziegler, H. (Hrsg.). Lehrbuch der Biophysik. S. 122-151, 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin

- Hauska, G.; Schütz, M.; Büttner, G. (1996). The cytochrome *b₆f* Complex - Composition, Structure and Function. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*. pp. 377-398, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- He, W.-Z.; Malkin, R. (1997). Photosystem II and Photosystem I. In: Raghavendra, A. S. (ed.). *Photosynthesis: A Comprehensive Treatise*. <http://mendel.berkeley.edu/~wzh/chapter3/content.html> (Cambridge University Press. In press)
- Heath, M. R.; Richardson, K.; Kiorboe, T. (1990). Optical assesment of phytoplankton nutrient depletion. *J. Plankton Res.* 12, 381-396
- Hoff, A. J. (1986). Triplets: Phosphorescence and Magnetic Resonance. In: Govindjee; Ames, J.; Fork, D. C. (eds.). *Light Emission by Plants and Bacteria*. pp. 497-537, Academic Press Inc., Orlando
- Hu, X.; Schulten, K. (1997). How nature harvest sunlight. *Physics Today* (Aug.), 28-34
- Hemelrijk, P. W.; van Gorkom, H. J. (1996). Size distributions of antenna and acceptor-pool of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1274, 31-38
- Ignatov, N. V.; Litvin, F. F. (1995). Light-regulated pigment interconversion in pheophytin/chlorophyll-containing complexes formed during plant leaves greening. *Photosynth. Res.* 46, 445-453
- Jassby, A. D.; Platt, T. (1976). Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 21, 540-547
- Joshi, M. K.; Mohanty, P. (1995). Probing photosynthetic performance by chlorophyll a fluorescence: Analysis and interpretation of fluorescence parameters. *J. Scient. Indust. Res.* 54, 155-174
- Karrasch, B.; Baborowski, M. (1996). Abundanz, Biomasse und Produktion des Bakterio- und Phytoplanktons in der Elbe. In: Prange, A. et al. (Hrsg.): *Ökosystem Elbe - Zustand, Entwicklung und Nutzung*. S. 20-24, Statusseminar des BMBF (7. Mageburger Gewässerschutzseminar), Budweis
- Kiefer, D. A.; Olson, R. J.; Wilson, W. H. (1979). Reflectance spectroscopy of marine phytoplankton. Part 1. Optical properties as related to age and growth rate. *Limnol. Oceanogr.* 24, 664-672
- Kiefer, D. A.; Reynolds, R. A. (1992). Advances in Understanding Phytoplankton Fluorescence and Photosynthesis. In: Falkowski, P. G. and Woodhead, A. D. (eds.). *Environmental Science Research*, Vol. 43, *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea*. pp. 155-174, Plenum Press, New York
- Kirk, J. T. O. (1994). *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge
- Kitchen, J. C.; Zaneveld, J. R. V. (1992). A three-layered model of the optical properties of phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 37, 1680-1690
- Kohl, J. G.; Nicklisch, A. (1988). *Ökophysiologie der Algen*. Akademie-Verlag, Berlin
- Kok, B.; Forbush, B.; McGloin, M. (1970). Cooperation of charges in photosynthetic oxygen evolution. A linear four step mechanism. *Photochem. Photobiol.* 11, 457-475
- Kramer, D. M.; Crofts, A. R. (1996). Control and Measurement of Photosynthetic Electron Transport in Vivo. In: Baker, N. R. (ed.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 5, *Photosynthesis and the Environment*. pp. 25-66, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Krause, G. H.; Weis, E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313-349
- Kromkamp, J.; Limbeck, M. (1993). Effect of short-term variation in irradiance on light harvesting and photosynthesis of the marine diatom *Skeletonema costatum*: A laboratory study vertical mixing. *J. Gen. Microbiol.* 139, 2277-2284

- Lavergne, J.; Briantais, J.-M. (1996).** Photosystem II Heterogeneity. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 265-287, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Lawlor, D. W. (1990).** *Photosynthese: Stoffwechsel - Kontrolle - Physiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- Lexa, M. (1996).** Virtual Cell. <http://ampere.scale.uiuc.edu/~m-lexa/cell/cell.html>. (See also: Govindjee's home page. <http://www.life.uiuc.edu/govindjee/>)
- Lichtenthaler, H. K. ed. (1988a).** *Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology and Remote Sensing*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Lichtenthaler, H. K. (1988b).** In Vivo Chlorophyll Fluorescence as a Tool For Stress Detection in Plants. In: Lichtenthaler, H. K. (ed.). *Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology and Remote Sensing*. pp. 129-142, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Lichtenthaler, H. K. (1992).** The Kautsky effect: 60 years of fluorescence induction kinetics. *Photosynthetica* 27, 45-55
- Lichtenthaler, H. K.; Rinderle, U. (1988).** The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *Crit. Rev. in Analyt. Chem.* 19, 29-85
- Malkin, R. (1996).** Photosystem I Electron Transfer Reactions - Components and Kinetics. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 313-332, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Mallin, M. A.; Pearl, H. W. (1992).** Effects of variable irradiance on phytoplankton productivity in shallow estuaries. *Limnol. Oceanogr.* 37, 54-62
- McBride, G. B. (1992).** Simple calculation of daily photosynthesis by means of five photosynthesis-light equations. *Limnol. Oceanogr.* 37, 1796-1808
- McCarty, R. E. (1996).** An Overview of the Function, Composition and Structure of the Chloroplast ATP Synthase. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 439-451, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Melis, A. (1996).** Excitation Energy Transfer: Functional and Dynamic Aspects of Lhc (cab) Proteins. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 523-538, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Mitchell, B. G. (1990).** Algorithms for determining the absorption coefficient of aquatic particulates using the quantitative filter technique (QFT). *Ocean Optics X SPIE* 1302, 137-148
- Morel, A. (1991).** Optics of Marine Particles and Marine Optics. In: Demers, S. (ed.). *Particle Analysis in Oceanography*. pp. 141-188, Springer-Verlag, Berlin
- Müller, G. K.; Müller, C. (1994).** *Geheimnisse der Pflanzenwelt*. Urania Verlag, Leipzig
- Murata, N.; Satoh, K. (1986).** Absorption and Fluorescence Emission by Intact Cells, Chloroplasts, and Chlorophyll-Protein Complexes. In: Govindjee; Ames, J.; Fork, D. C. (eds.). *Light Emission by Plants and Bacteria*. pp. 137-159, Academic Press Inc., Orlando
- Mustárdy, L. (1996).** Development of Thylakoid Membrane Stacking. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 59-68, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Neale, P. J.; Melis, A. (1991).** Dynamics of photosystem II heterogeneity during photoinhibition: Depletion of PS II_B from non-apressed thylakoids during strong-irradiance exposure of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochim. Biophys. Acta* 1056, 195-203
- Neale, P. J.; Melis, A. (1986).** Algal photosynthetic membran complexes and the photosynthesis-irradiance curve: A comparison of light-adaption responses in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 22, 531-538
- Owens, T. G. (1991).** Energy Transformation and Fluorescence in Photosynthesis. In: Demers, S. (ed.). *Particle Analysis in Oceanography*. pp. 101-137, Springer-Verlag, Berlin

- Owens, T. G.; Falkowski, P. G. (1981). Enzymatic degradation of chlorophyll *a* by marine phytoplankton in vitro. *Phytochemistry* 21, 979-984
- Pålsson, L.-O.; Tjus, S. E.; Andersson, B.; Gillbro, T. (1995). Energy transfer in photosystem I. Time resolved fluorescence of the native photosystem I complex and its core complex. *Chemical Physics* 194, 291-302
- Pfannschmidt, T.; Nilsson, A.; Allen, J. F. (1999). Photosynthetic control of chloroplast gene expression. *Nature* 397, 625-628
- Ramus, J. (1978). Seaweed anatomy and photosynthetic performance: The ecological significance of light guides, heterogeneous absorption and multiple scatter. *J. Phycol.* 14, 352-362
- Rebane, K. K. (1993). Possibility of self organisation in photosynthetic light harvesting antennae. *J. of Phys. Chem.* 96, 9583-9585
- Renger, G. (1982). Photosynthese. In: Hoppe, W.; Lohmann, W.; Markl, H.; Ziegler, H. (Hrsg.). *Lehrbuch der Biophysik*. S. 532-561, 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin
- Renger, G. (1992). Energy Transfer and Trapping in Photosystem II. In: Barber, J. (ed.). *The Photosystems: Structure, Function and Molecular Biology*. pp. 45-99, Elsevier, Amsterdam
- Renger, G.; Dohnt, G.; Kaye, M.; Voss, M.; Gräber, P. (1987). Die Chlorophyll-*a*-Fluoreszenz als Indikator des Funktionszustandes des Photosyntheseapparats in Pflanzen. Theoretische Grundlagen und praktische Anwendung. *Arch. Hydrobiol. Beih., Ergebn. Limnol.* 29, 1-24
- Renger, G.; Schreiber, U. (1986). Practical Application of Fluorometric Methods to Algae and Higher Plant Research. In: Govindjee; Ames, J.; Fork, D. C. (eds.). *Light Emission by Plants and Bacteria*. pp. 587-619, Academic Press Inc., Orlando
- Renger, G.; Schulze, A. (1985). Quantitative analysis of fluorescence induction curves in isolated spinach chloroplasts. *Photobiochem. Photobiophys.* 9, 79-85
- Rowan, K. S. (1989). *Photosynthetic Pigments of Algae*. Cambridge University Press, Cambridge
- Ruttner, F. (1952). *Grundriss der Limnologie*. 2. Auflage, Walter de Gruyter & Co., Berlin
- Richardson, K.; Beardell, J.; Raven, J. A. (1983). Adaptation of unicellular algae to irradiance: An analysis of strategies. *New Phytol.* 93, 157-191
- Schatz, G. H.; Brock, H.; Holzwarth, A. R. (1988). Kinetic and energetic model for the primary processes in Photosystem II. *Biophys. J.* 54, 397-405
- Schlee, D. (1992). *Ökologische Biochemie*. 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena
- Schlösser, U. G. (1982). List of strains. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 95, 181-276
- Schmidt, W. (1988). Luminescence of Organic Molecules, Theory and Analytical Applications in Photosynthesis. In: Lichtenthaler, H. K. (ed.). *Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology and Remote Sensing*. pp. 211-216, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Schönknecht, G.; Naimanis, S.; Katona, E.; Gerst, U.; Heber, U. (1995). Relationship between photosynthetic electron transport and pH gradient across the thylakoid membrane in intact leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 12185-12189
- Schreiber, U.; Schliwa, U.; Bilger, W. (1986). Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.* 10, 51-61
- Seaton, G. G. R.; Walker, D. A. (1990). Chlorophyll fluorescence as a measure of photosynthetic carbon assimilation. *Proc. R. Soc. London B242*, 29-35
- Shampine, L. F.; Reichelt, M. W. (1997). The MATLAB ODE suite. *SIAM Journal on Scientific Computing* 18, 1-22
- Sieburth, J. McN.; Smetacek, V.; Lenz, J. (1978). Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol. Oceanogr.* 23, 1256-1263

- Simpson, D. J.; Knoetzel, J. (1996).** Light-harvesting Complexes of Plants and Algae: Introduction, Survey and Nomenclature. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 493-506, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Stirbet, A.; Strasser, R. J. (1996).** Numerical simulation of the in vivo fluorescence induction in plants. *Mathematics and Computers in Simulation* 42, 245-253
- Staehelin, L. A.; van der Staay, G. W. M. (1996).** Structure, Composition, Functional Organisation and Dynamic Properties of Thylakoid Membranes. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 11-30, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- Stober, F.; Lichtenthaler, H. K. (1992).** Changes of the laser-induced blue, green and red fluorescence signatures during greening of etiolated leaves of wheat. *J. Plant Physiol.* 140, 673-680
- Trissl, H. W.; Gao, Y.; Wulk, K. (1993).** Theoretical fluorescence induction curves derived from coupled differential equations describing the primary photochemistry of photosystem II by an exciton radical pair equilibrium. *Biophys. J.* 64, 974 - 988
- Trissl, H. W.; Wilhelm, C. (1993).** Why do thylakoid membranes from higher plants form grana stacks? *Trends Biochem. Sci.* 18, 415-419
- Thimijan, R. W.; Heins, R. D (1983).** Photometric, radiometric and quantum light units of measure: A review of procedures for interconversion. *Hort science.* 18, 818-822
- van Grondelle, R.; Ames, J. (1986).** Excitation Energy Transfer in Photosynthetic Systems. In: Govindjee; Ames, J.; Fork, D. C. (eds.). *Light Emission by Plants and Bacteria*. pp. 192-223, Academic Press Inc., Orlando
- von Smekot-Wensierski, W.; Wozniak, B.; Graßl, H.; Doerffer, R. (1992).** Die Absorptionseigenschaften des marinen Phytoplanktons. *GKSS Forschungszentrum Geesthacht, Report Nr. 92/E/105*
- Weis, E.; Berry, J. A. (1987).** Quantum efficiency of Photosystem II in relation to 'energy'-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 894, 198-208
- Welschmeyer, N. A. (1994).** Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *b* and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.* 39, 1985-1992
- Whitmarsh, J. (1998).** Persönliche Mitteilung.
- Whitmarsh, J.; Govindjee (1996).** The Photosynthetic Process. <http://www.life.uiuc.edu/govindjee/paper/gov.htm> (revised and modified version of "Photosynthesis" by J. Whitmarsh and Govindjee (1995), published in *Encyclopedia of Applied Physics*, Vol. 13, pp. 513-532 by VCH Publishers Inc. New York)
- Wilhelm, C. (1990).** The biochemistry and physiology of light-harvesting processes in chlorophyll *b*- and chlorophyll *c*-containing algae. *Plant Physiol. Biochem.* 28, 293-306
- Wilhelm, C.; Bida, J.; Lohr, M. (1996).** The quantitative effect of photoinhibition on the productivity of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* - implication on the assessment of the primary production under natural conditions. *Sci. Mar. Barc.* 60, 249-255
- Wilhelm, C.; Manns, L. (1991).** Changes in pigmentation of phytoplankton species during growth and stationary phase - consequences for reliability of pigment-based methods of biomass determination. *J. Appl. Phycol.* 3, 305-310
- Wolfe, G. R.; Hooper, J. K. (1996).** Evolution of Thylakoid Structure. In: Ort, R. D.; Yocum, C. F. (eds.). *Advances in Photosynthesis*, Vol. 4, Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions. pp. 31-40, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht

8. Anhang

Im Anschluß sind einige Untersuchungsergebnisse nachgeordnet dargestellt, die sich nicht direkt in die vorangegangene Abhandlung eingliedern, auf die jedoch betreffs der experimentellen Bedingungen und Befunde ergänzend im Text hingewiesen wurde.

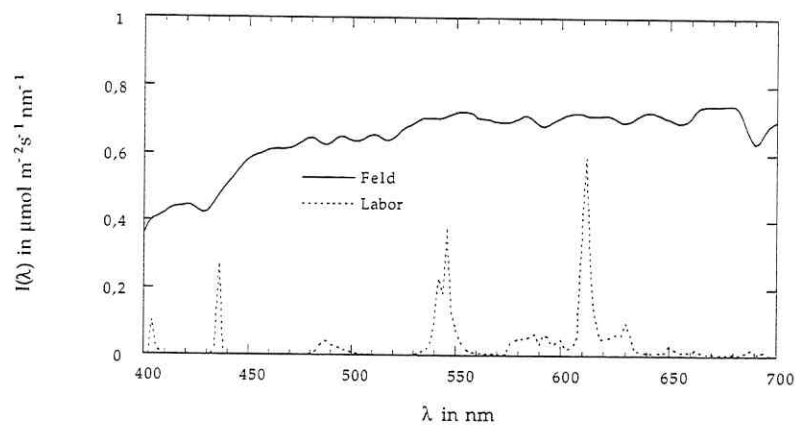


Abb. 8.1. Spektrale Bestrahlungsintensität, unter der die Algenkulturen im Labor aufgezogen wurden (gestrichelte Linie; Intensität der PAR von $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sowie eine spektrale Bestrahlungsintensität im Feld bei bewölktem Himmel am 14.08.1996 um 17:00 Uhr in Höhe des Elbe-Kilometers 318 mit einer Intensität der PAR von $194 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (durchgezogene Linie). Diese Messungen der abwärtsgerichteten Strahlung (PAR downwelling) erfolgten atmosphärisch mittels eines LI-COR-Spektorradiometers¹.

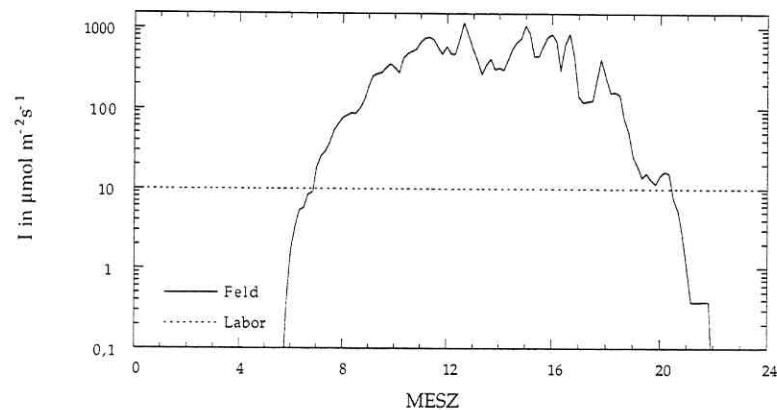


Abb. 8.2. Intensität der PAR, unter der die Algenkulturen im Labor aufgezogen wurden (gestrichelte Linie; Intensität pro Tag von $0,864 \text{ mol m}^{-2}$) sowie die Intensität der PAR im Feld am 14.08.1996 in Höhe des Elbe-Kilometers 318 mit einer Intensität pro Tag von $17,1 \text{ mol m}^{-2}$ (durchgezogene Linie). Diese Messungen der abwärtsgerichteten Strahlung (PAR downwelling) erfolgten atmosphärisch mittels eines LI-COR-Quantumsensors².

¹ LI 1800; Waltz-GmbH, Effeltrich.

² LI 190; Waltz-GmbH, Effeltrich.

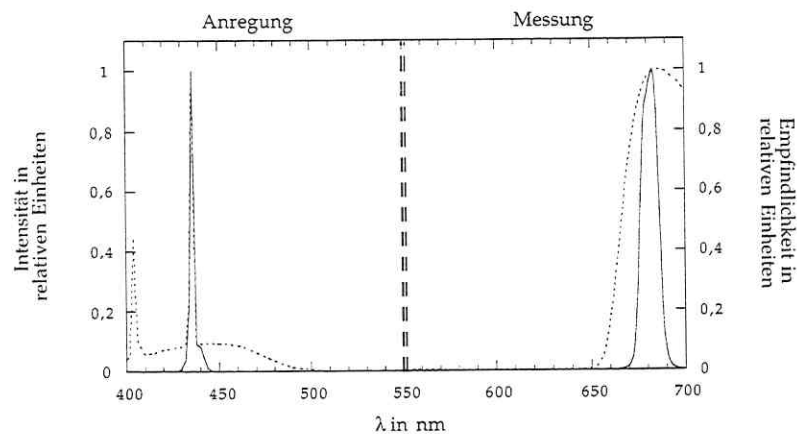


Abb. 8.3. Spektraleigenschaften des Turnerfluorometers¹ bestückt mit Interferenzfiltern (Anregung: IF435, Messung: IF680) zur extraktiven Bestimmung des Chl-*a*-Gehalts (durchgezogene Linien) und konventionell bestückt mit Farbfiltern (Anregung: FF5-60, Messung: RG665) für In-vivo-Untersuchungen der Chl-*a*-Fluoreszenzintensität (gestrichelte Linien).

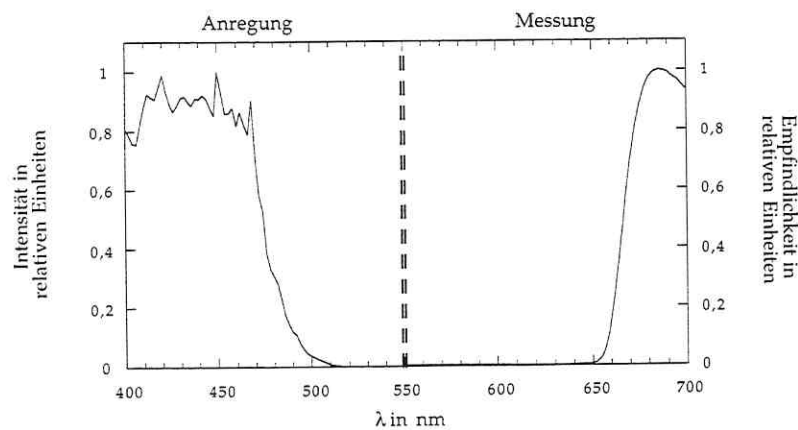


Abb. 8.4. Spektraleigenschaften des Meßaufbaus zur Erfassung der Fluoreszenzinduktionskinetik bestehend aus einer Xenonleuchte² und einer Photomultiplieranordnung³ unter Verwendung von Farb- bzw. Kantenfiltern FF5-60 und KF505 für die Anregung sowie RG665 für die Messung.

¹ Turnerfluorometer vom Typ 10-AU-005; GAT GmbH, Bremerhaven. Bestückt war das Gerät mit einer Leuchtstoffröhre F4T5D und einem Photomultiplier R446.

² Xenon-Leuchte vom Typ CLX 111; Carl Zeiss Jena GmbH, Jena.

³ Photomultiplier vom Typ 77341; L.O.T.-Oriol GmbH, Darmstadt.

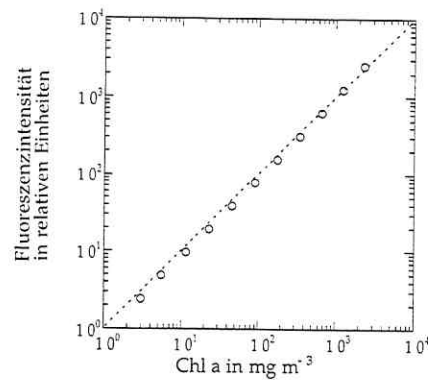


Abb. 8.5. Kalibrierung des Turnerfluorometers. Die Konzentrationswerte des in Ethanol gelösten Chl-*a*-Standards und die dazugehörigen Fluoreszenzintensitäten korrelieren mit $R = 0,998$ für $N = 11$.

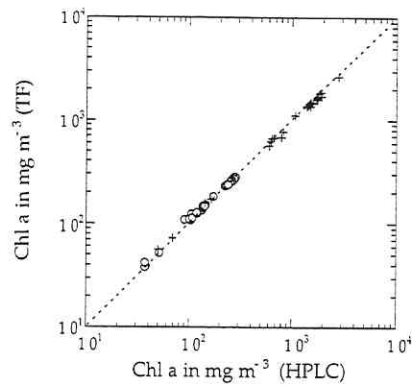


Abb. 8.6. Chl-*a*-Gehalte von 51 Proben aus der Elbe (o) und 31 Proben der Algenkulturen (+), korrelierend mit $R = 0,996$; $N = 82$, parallel bestimmt mittels Turnerfluorometer (TF) und der Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie (HPLC: High Performance Liquid Chromatography). Die HPLC-Analysen, bei der Polaritätsunterschiede der Pigmente zur Trennung selbiger genutzt werden, wurden dankenswerter Weise von Frau Dr. G. Kopf aus der Abteilung Gewässerchemie im UFZ durchgeführt.

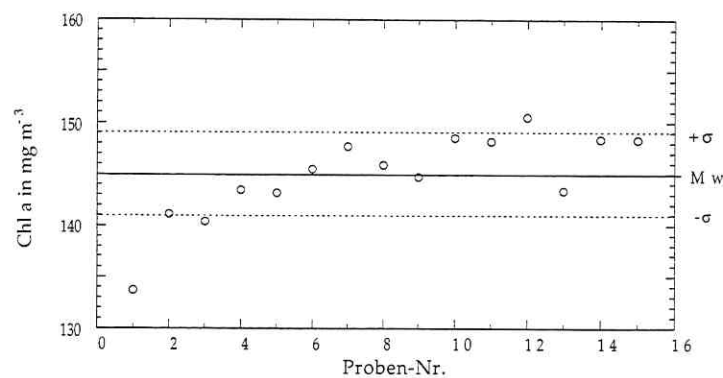


Abb. 8.7. Bestimmung des Chl-*a*-Gehalts von 15 Proben aus einer Gesamtheit mit einem Mittelwert M_w von 145 mg m^{-3} und einer Standardabweichung σ von 4 mg m^{-3} . Die Gesamtheit wurde aus der Elbe mittels einer Tauchpumpe entnommen und über ein verzweigtes Leitungssystem gleichzeitig in 15 Proben geteilt.

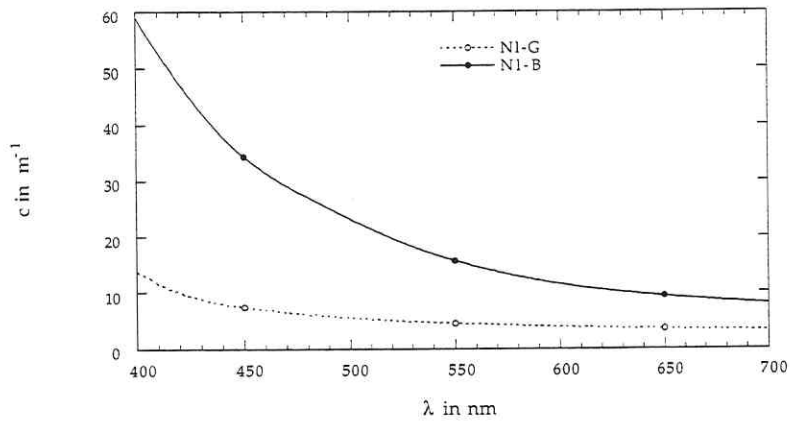


Abb. 8.8. Attenuationskoeffizient c der Nährlösungen für die Algenkulturen des grünen (NI-G) bzw. braunen Zweigs (NI-B).

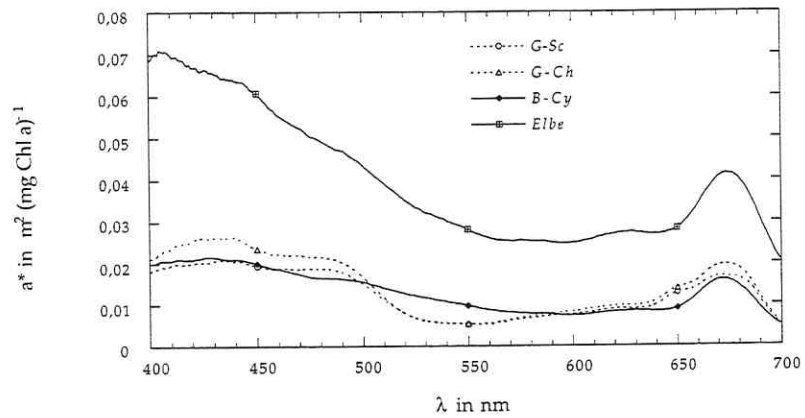


Abb. 8.9. Spezifischer Absorptionskoeffizient a^* der verschiedenen Algenkulturen (s. Abb. 3.4) bzw. der organischen partikulären Stoffe der Elbe (s. Abb. 3.11). Zugrunde liegen die Chl- a -Gehalte, die in Tab. 3.1 bzw. zu Abb. 3.11 angegeben sind.

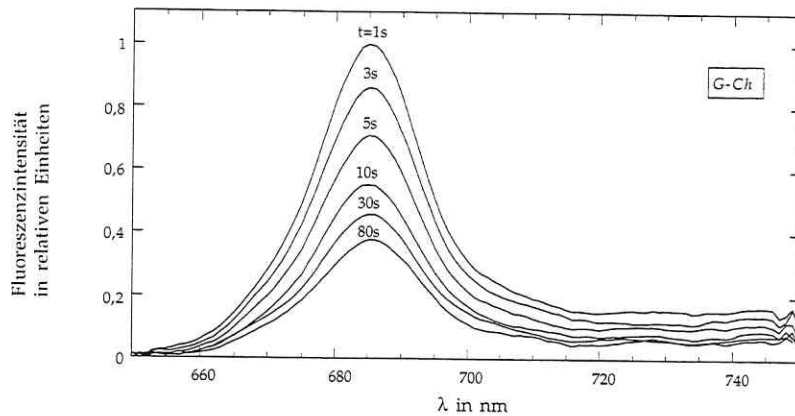


Abb. 8.10. Kurven einer Spektralkinetik der Fluoreszenzintensität für die dunkeladaptierte Algenkultur *Chlorella vulgaris* im Aufwuchsstadium (normiert auf Maximalwert). Zu den angegebenen Zeiten t sind Messungen ausgewählt dargestellt. Durchgeführt wurden diese Messungen im Sekundentakt mittels des Simultan-Spektrometers nach Einsetzen der Belichtung mit $I = 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gemäß der spektralen Charakteristik der Anregung in Abb. 8.4.

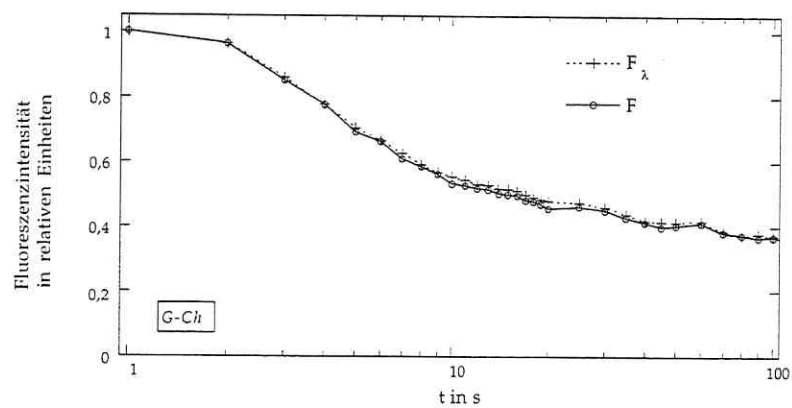


Abb. 8.11. Zeitliche Verläufe der Fluoreszenzintensitäten F_λ für $\lambda = 686 \text{ nm}$ und F , integriert über den Wellenlängenbereich $650 \text{ nm} \leq \lambda \leq 750 \text{ nm}$ aus Kurven der entsprechenden Spektralkinetik in Abb. 8.10. Die Werte F und F_λ , die jeweils auf ihren Maximalwert normiert wurden, korrelieren mit $R = 0,997$ für $N = 31$.

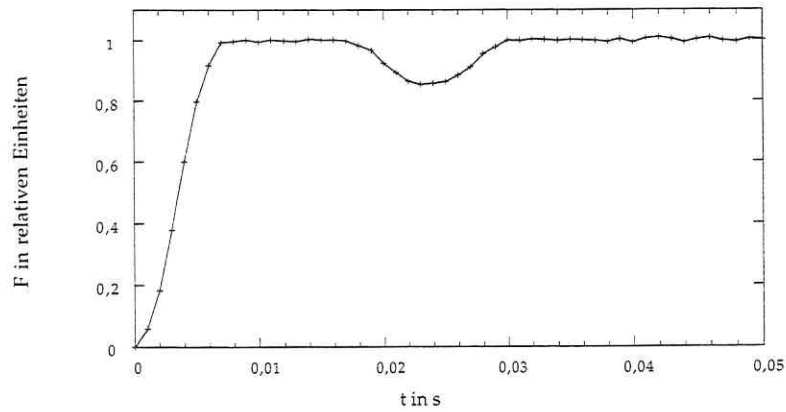


Abb. 8.12. Fluoreszenzintensität F gemessen an einem Chl- a -Standard unter Verwendung der Meßanordnung zur Erfassung der Fluoreszenzinduktionskinetik mit einer zeitlichen Auflösung von $0,001\text{ s}$ bei einer Integrationszeit des Meßverstärkers von $150\text{ }\mu\text{s}$ (Mittelung aus drei Messungen). Ein Rückfedern des Verschlusses an der Xenonleuchte verursacht eine Verzögerung im Abschluß des Einschaltvorgangs der Anregungsintensität, so daß dieser Vorgang erst nach einer Zeit von $0,03\text{ s}$ beendet ist.

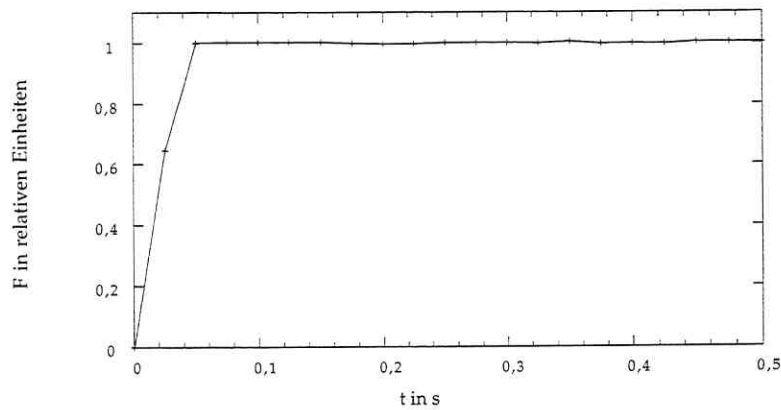


Abb. 8.13. Fluoreszenzintensität F gemessen an einem Chl- a -Standard unter Verwendung der Meßanordnung zur Erfassung der Fluoreszenzinduktionskinetik mit einer zeitlichen Auflösung von $0,025\text{ s}$ bei einer Integrationszeit des Meßverstärkers von $0,015\text{ s}$. Für $0,05\text{ s} \leq t \leq 0,5\text{ s}$ ergaben die Werte $F(t)$ eine Standardabweichung σ von $0,2\%$ bezogen auf den Mittelwert.

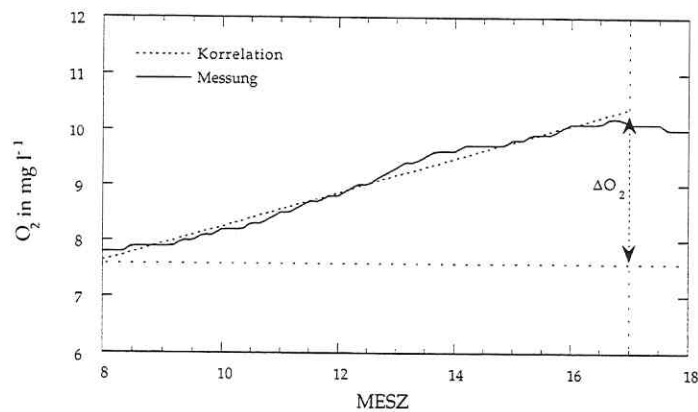


Abb. 8.14. Gehalt des gelösten Sauerstoffs in der Elbe am 14.08.1996 in Höhe des Stromkilometers 318 linksseitig. Die Zunahme des gelösten Sauerstoffs ΔO_2 betrug zwischen 8 und 17 Uhr annähernd $2,7 \text{ mg l}^{-1}$. Der Sauerstoffgehalt stieg linear um $0,3 \text{ mg l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ mit $R = 0,992$ für $N = 55$ an. Die Messung erfolgte in situ mit Hilfe eines konventionellen Sauerstoffsensors¹.

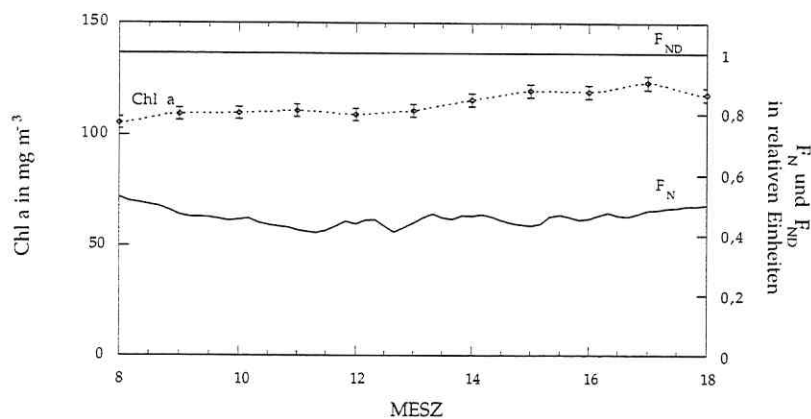


Abb. 8.15. Chl- a -Gehalt und In-vivo-Fluoreszenzemission F_N sowie maximale Fluoreszenzemission F_{ND} der Algenpopulation in der Elbe am 14.08.1996 in Höhe des Stromkilometers 318 linksseitig. Die 11 analysierten Werte des Chl- a -Gehalts wurden durch interpolierte Werte ergänzt, so daß sie sich als Bezugswerte für die Rohdaten der In-vivo-Fluoreszenzmessung benutzen ließen. Die Daten der Fluoreszenzmessung lagen gespeichert im Zeitraster von 10 min vor und wurden auf den maximalen Fluoreszenzwert einer mit DCMU toxisch behandelten Tagesmischprobe normiert, der seinerseits vorab auf den Chl- a -Tagesmittelwert bezogen wurde.

¹ Oxi 196; WTW-GmbH, Weilheim.

Danksagungen

Herrn Prof. Dr. Dr. G. Berg und Herrn Dr. K.-J. Berg gebührt mein außerordentlicher Dank, sich innerhalb des Fachbereichs Physik der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg des Themas angenommen zu haben. In wissenschaftlich stets voranbringender und dabei doch überaus herzlicher Atmosphäre fanden zahlreiche Konsultationen statt, die maßgeblich zum Zustandekommen der vorliegenden Niederschrift beitrugen.

Herrn Dr. B. Karrasch und Frau U. Suhr, die mich jederzeit unterstützten, danke ich besonders und stellvertretend für MitarbeiterInnen in der Sektion Gewässerforschung Magdeburg des Umweltforschungszentrums Leipzig-Halle, welche mir während der Arbeit behilflich waren.

Nicht zuletzt danke ich Frau B. Hendrichs, meiner Frau und Freundin, die u.a. das Material Korrektur las.

Lebenslauf

Name:	Götz Günther
Geburtsdatum:	31. August 1964
Geburtsort:	Magdeburg
Familienstand:	Verheiratet, ein Kind
1971-1979	Polytechnische Oberschule "August Bebel", Magdeburg
1979-1983	Erweiterte Oberschule "Humboldt", Magdeburg
1983-1985	Soldat sowie Arbeiter in der Landwirtschaft und in der Metallindustrie
1985-1990	Studium der Physik an der Technischen Universität "Otto von Guericke", Magdeburg
1990-1991	Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Forschungsbereich der Wasserwirtschaft, Magdeburg
1991-1992	Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Forschungsbereich des Staatlichen Amtes für Umweltschutz, Magdeburg
1992-1994	Wissenschaftlicher Mitarbeiter (1/2), Institut für Gewässerforschung Magdeburg im Großforschungszentrum GKSS Geesthacht
1995-1997	Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Sektion Gewässerforschung Magdeburg im UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle
seit 1998	Ohne bezahlte Arbeit

Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig ohne fremde Hilfe verfaßt, keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und wörtlich oder inhaltlich aus den benutzten Werken entnommene Stellen gekennzeichnet habe.

Außerdem erkläre ich, mich bisher nicht um einen Doktorgrad beworben zu haben.