



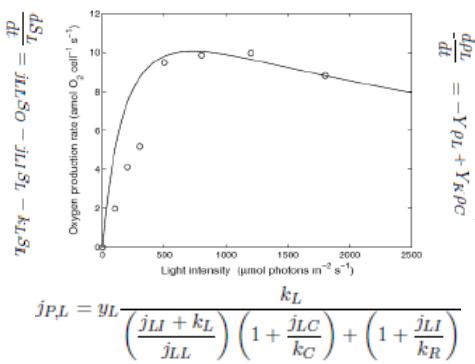
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Μαθηματική μοντελοποίηση ρυθμιστικών
μηχανισμών ανάπτυξης των ευκαρυωτικών
φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών

ΙΩΑΝΝΗΣ Α. ΠΑΠΑΔΑΚΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ



αφιερώνεται στις κόρες μου Χρύσα και Αλεξάνδρα, στη σύντροφο της ζωής μου Μαρία και στους γονείς μου Αλέξανδρο και Μαρία

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Κ. Λύκα (Επικ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Κρήτης)

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κ. Λύκα (Επικ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Κρήτης)

Κ. Κοτζαμπάσης (Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

P. Divanach (Ερευνητής Α, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Κ. Λύκα (Επικ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Κρήτης)

Κ. Κοτζαμπάσης (Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

P. Divanach (Ερευνητής Α, ΕΛ.ΚΕ.Θ.Ε.)

Δ. Γανωτάκης (Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

I. Καρακάσης (Αν. Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

M. Παυλίδης (Επικ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Σ. Πυρίντσος (Επικ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Πρόλογος

.... „το βιβλίο της φύσης είναι γραμμένο στη γλώσσα των μαθηματικών“, Galileo Galilei, 1623.

Με αυτήν την παρακαταθήκη του Γαλιλαίου χαραγμένη στο μυαλό μου, ξεκίνησα τη διδακτορική διατριβή φιλοδοξώντας να διαβάσω μερικές αράδες από αυτό το βιβλίο και να τις μεταφέρω στο κείμενο που ακολουθεί.

Η φωτοσύνθεση είναι μια πολύπλοκη φυσικοχημική διεργασία που συμβαίνει μέσα σε ζωντανούς οργανισμούς. Όπως στη Ζωή, έτσι και στη φωτοσύνθεση, τίποτα δεν συμβαίνει τυχαία. Υπάρχουν γενικοί κανόνες που επιβάλλονται στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς λόγω καταγωγής, και ειδικότεροι κανόνες που επιβάλλονται από την ιδιομορφία κάθε φωτοσυνθετικού οργανισμού. Οι κανόνες αυτοί καθορίζουν την προσαρμοστικότητά των φωτοσυνθετικών οργανισμών στις επιχρατούσες, κάθε φορά, περιβαλλοντικές συνθήκες.

Η μοντελοποίηση της φωτοσύνθεσης ξεκίνησε περίπου πριν από 60 χρόνια. Όμως, τα μαθηματικά είναι τέχνη και όχι τεχνική. Το στοίχημα στη μοντελοποίηση έχει ονοματεπώνυμο: απλότητα και ακρίβεια. Στον αγώνα για την απλότητα ελλοχεύει πάντα ο κίνδυνος της απλοϊκότητας και στην αγωνία για ακρίβεια ελλοχεύει ο κίνδυνος της πολυπλοκότητας.

Όποιος ασχολείται με τη μοντελοποίηση αυτών των πανέξυπνων οργανισμών, των φωτοσυνθετικών, οφείλει πάντα να ισορροπεί στο τεντωμένο σχοινί της απλότητας και της ακρίβειας. Αυτό γίνεται δύσκολα κατορθωτό γιαυτό και υπάρχουν πάρα πολλά μαθηματικά μοντέλα για τη φωτοσύνθεση, λίγα όμως από αυτά καταφέρνουν να μείνουν κοντά στο στόχο της απλότητας και της ακρίβειας. Φιλοδοξία κάθε προσπάθειας μας είναι να πλησιάσουμε αυτό το στόχο.

..... από καρδιάς

Ευχαριστώ τα μέλη της επιταμελούς επιτροπής, Ι. Καρακάση, Δ. Γανωτάκη, Μ. Παυλίδη και Σ. Πυρίντσο για το προσεκτικό διάβασμα του αρχικού κειμένου αυτής της διατριβής και τις χρήσιμες επισημάνσεις τους.

Ευχαριστώ τον κ. P. Divanach για τη βοήθεια και τις ιδέες του κατά την εκπόνηση της διδακτορικής μου διατριβής.

Ευχαριστώ τον κ. Κοτζαμπάση που με ενέπνευσε να ασχοληθώ με τη φωτοσύνθεση και με στήριξε επιστημονικά σε όλη τη διάρκεια του διδακτορικού. Επίσης τον ευχαριστώ για την ανθρώπινη υποστήριξη στις δύσκολες στιγμές αυτής της προσπάθειας.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως την κ. Λύκα για την καθοδήγηση, τη συμπαράσταση και τη βοήθεια σε κάθε βήμα αυτής της προσπάθειας και για την επιμονή της στην τελειότητα.

Ευγνωμοσύνη οφείλω στον καθηγητή μου από το Φυσικό κ. Π. Λαμπρόπουλο γιατί με ενέπνευσε όσο ήμουνα φοιτητής και γιατί με εμπιστεύτηκε 18 χρόνια από την αποφοίτησή μου.

Ευχαριστώ το Θ. Γκομπόϊτσο που μου έβαλε την ιδέα για μεταπτυχιακό στο τμήμα Βιολογίας και για τις συζητήσεις που είχαμε κατά καιρούς. Ευχαριστώ το συμφοιτητή και φίλο μου Δ. Σφρακιανάκη για τις πολύτιμες συμβουλές παρότι είναι νεότερος από μένα. Ευχαριστώ Ν. Ιωαννίδη και την Ε. Ναβακούδη για την πολύτιμη βοήθεια στα πειράματα.

Ευχαριστώ τα αδέλφια μου για το αμείωτο ενδιαφέρον και τη συμπαράστασή τους. Ευχαριστώ τους γονείς μου που με δίδαξαν να αγωνίζομαι και να αντλώ δύναμη με τη σκέψη τους.

Ζητώ συγνώμη από τις κόρες μου και τη γυναίκα μου για το χρόνο που τους στέρησα στη διάρκεια της μακρόχρονης πορείας του διδακτορικού και τις ευχαριστώ για τη στήριξη που μου παρείχαν. Χωρίς την κατανόηση και τη συμπαράσταση τους δεν θα είχε ολοκληρωθεί αυτή η προσπάθεια γιαυτό τους αφιερώνω τη διατριβή μου.

Περιεχόμενα

| | |
|---|-----------|
| 1 Γενική Εισαγωγή | 1 |
| 1.1 Φωτοσύνθεση | 1 |
| 1.2 Μαθηματική Μοντελοποίηση | 3 |
| 1.3 Δομή της Διδακτορικής διατριβής | 14 |
| 2 Εγκλιματισμός των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες Φωτός και Διοξειδίου του άνθρακα | 15 |
| 2.1 Εισαγωγή | 17 |
| 2.2 Το βασικό μοντέλο της φωτοσύνθεσης | 20 |
| 2.3 Ανάλυση και έλεγχος του μοντέλου | 26 |
| 2.4 Συζήτηση | 34 |
| 2.5 Παράρτημα | 38 |
| 3 Προσαρμογή των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες Φωτός και Διοξειδίου του άνθρακα | 41 |
| 3.1 Εισαγωγή | 43 |
| 3.2 Το μοντέλο της προσαρμογής | 45 |
| 3.3 Αξιολόγηση του Μοντέλου | 51 |
| 3.4 Συζήτηση | 60 |
| 3.5 Παράρτημα: το πείραμα | 63 |
| 4 Πληθυσμιακό μοντέλο των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στη στήλη του νερού | 65 |
| 4.1 Εισαγωγή | 67 |
| 4.2 Το πληθυσμιακό μοντέλο | 67 |
| 4.2.1 Αφομοίωση | 69 |
| 4.2.2 Διατήρηση | 72 |
| 4.2.3 Ανάπτυξη | 72 |
| 4.2.4 Θνησιμότητα | 73 |
| 4.3 Αποτελέσματα | 73 |
| 4.4 Συζήτηση | 81 |
| 5 Εφαρμογές - Πληθυσμιακό μοντέλο φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών για την αποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων | 87 |
| 5.1 Εισαγωγή | 88 |
| 5.2 Το μαθηματικό μοντέλο | 89 |
| 5.2.1 Βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων | 92 |
| 5.2.2 Φωτοαυτοτροφική Αφομοίωση | 94 |
| 5.2.3 Διατήρηση | 95 |

| | | |
|---------------------|------------------------|------------|
| 5.2.4 | Ανάπτυξη | 95 |
| 5.2.5 | Θνησιμότητα | 96 |
| 5.3 | Αποτελέσματα | 96 |
| 5.4 | Συζήτηση | 99 |
| Περίληψη | | 109 |
| Abstract | | 113 |
| Δημοσιεύσεις | | 123 |

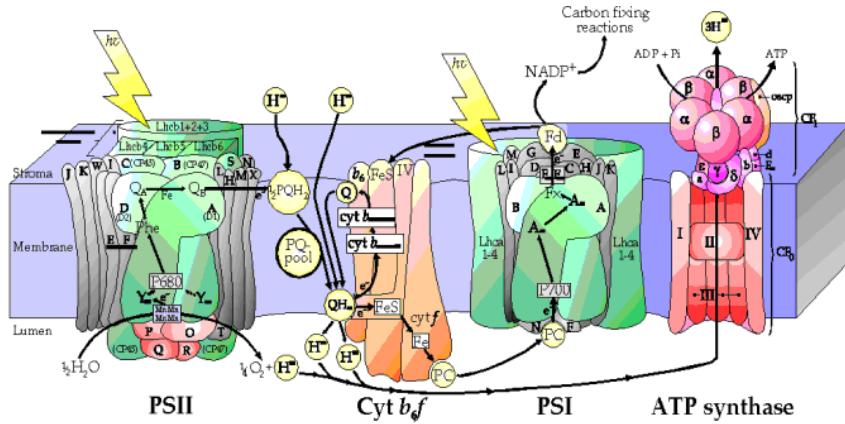
Κεφάλαιο 1

Γενική Εισαγωγή

1.1 Φωτοσύνθεση

Η φωτοσύνθεση είναι μια πολύπλοκη φυσικοχημική διαδικασία που λαμβάνει χώρα στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς (φυτά, άλγη και κυανοβακτήρια). Η φωτοσύνθεση χαρακτηρίζεται ως οξυγονική, αν ο φωτοσυνθετικός οργανισμός δεσμεύει από το περιβάλλον του φως, διοξείδιο του άνθρακα και νερό, απελευθερώνει σε αυτό οξυγόνο και συνθέτει υδατάνθρακες ή ανοξυγονική, αν ο φωτοσυνθετικός οργανισμός δεσμεύει από το περιβάλλον του φως, διοξείδιο του άνθρακα και υδρόθειο, απελευθερώνει σε αυτό θείο και συνθέτει υδατάνθρακες. Στη συνέχεια με τον όρο φωτοσύνθεση θα εννοούμε την οξυγονική φωτοσύνθεση. Στη διάρκειά της φωτοσύνθεσης, ο φωτοσυνθετικός οργανισμός δεσμεύει φωτεινή ενέργεια και τη μετασχηματίζει σε χημική (φωτοαυτοροφία). Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης οδηγεί σε ποιοτική αναβάθμιση της ενέργειας (φωτεινή σε χημική) και αποτελεί τη σπουδαιότερη αν όχι τη μοναδική αντιεντροπική διαδικασία που συμβαίνει στον πλανήτη Γη. Οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί καταφέρνουν να ενσωματώσουν περίπου 100-115 Tg C σε βιομάζα, κάθε χρόνο [53]. Παρόλο που οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί ανήκουν σε διαφορετικά είδη, εμφανίζουν κοινά σημεία όσον αφορά τη φωτοσύνθεση. Π.χ. η φωτοσύνθεση αρχίζει με τη δέσμευση της φωτεινής ενέργειας από τις χλωροφύλλες των φωτοσυνθετικών μονάδων του κυττάρου. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, οι φωτοσυνθετικές μονάδες βρίσκονται μέσα σε ειδικά κυτταρικά οργανίδια, τους Χλωροπλάστες, ενώ στα βακτήρια εδράζονται στην εσωτερική επιφάνεια των κυτταρικών τους μεμβρανών. Η φωτοσυνθετική μονάδα (Photosynthetic unit - PSU) είναι λειτουργική δομή που αποτελείται από 4 σύμπλοκα ενζύμων/πρωτεΐνων (Σχήμα 1.1): το φωτοσύστημα II (PSII) με το σύμπλοκο συλλογής φωτός (LHC II), το φωτοσύστημα I (PSI), το κυττόχρωμα b₆f (cyt b₆f) και την ATP-άση (ATP synthase) [129].

Ένα μέρος από τη δέσμευμένη ενέργεια διοχετεύεται στη γραμμική ροή ηλεκτρονίων (Linear Electron Flow - LEF) για να παραχθεί NADPH, ATP και O₂, μέσω της φωτόλυσης του H₂O, ενώ το υπόλοιπο ποσό της δέσμευμένης ενέργειας διοχετεύεται στην κυκλική ροή ηλεκτρονίων (Cyclic



Σχήμα 1.1: Λειτουργική δομή της φωτοσυνθετικής μονάδας (PSU)

Electron Flow - CEF) για την παραγωγή ATP, και σε άλλα μονοπάτια απόσβεσης της ενέργειας. Το σύνολο των παραπάνω αντιδράσεων είναι γνωστό σαν «Φωτεινές αντιδράσεις» της φωτοσύνθεσης επειδή γίνονται μόνο παρουσία φωτός. Στη συνέχεια, ακολουθεί μια σειρά από αντιδράσεις, γνωστές με το όνομα «άκυκλος Calvin-Benson», στη διάρκεια των οποίων χρησιμοποιούνται προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων (NADPH και ATP) και ανόργανος άνθρακας (CO_2) για την παραγωγή υδατανθράκων. Οι προηγούμενες αντιδράσεις αναφέρονται και σαν «Σκοτεινές αντιδράσεις» της φωτοσύνθεσης επειδή πραγματοποιούνται και απουσία φωτός για όσο χρονικό διάστημα εξακολουθεί η τροφοδότησή τους με NADPH και ATP. Η συντονισμένη λειτουργία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού είναι υπό συνεχή γονιδιακό έλεγχο και ενζυμική υποστήριξη προκειμένου να αποκρίνεται στις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες και στη φυσιολογία του κυττάρου. Όσο και αν ακούγεται παράδοξο, ο μεγαλύτερος κίνδυνος για το φωτοσυνθετικό μηχανισμό είναι ο ευεργέτης του, δηλαδή το ΦΩΣ. Η έκθεση του φωτοσυνθετικού μηχανισμού σε φως πολύ υψηλής έντασης μπορεί να του προκαλέσει ανεπανόρθωτη ζημιά και να οδηγήσει σε μείωση της φωτοσυνθετικής του ικανότητας, γνωστή με το όνομα «Φωτοαναστολή», ή ακόμη χειρότερα να προκαλέσει τη φωτοκαταστροφή του [15]. Ο κύριος στόχος της βλάβης είναι τα ένζυμα-κλειδιά του PS II. Το φωτοσυνθετικό κύτταρο διαθέτει ειδικό μηχανισμό αποδόμησης αυτών των κατεστραμμένων πρωτεΐνων και εκ νέου σύνθεσης λειτουργικών πρωτεΐνων που επανεισάγονται στο φωτοσυνθετικό μηχανισμό, όμως ο αγώνας δρόμου μεταξύ της φωτοαπενεργοποίησης και της επιδιόρθωσης είναι αμφίρροπος [110]. Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός δεσμεύει τη φωτεινή ενέργεια και τη διαχειρίζεται με την προοπτική να αποφύγει την ανεπαρκή τροφοδότηση με NADPH και ATP του κύκλου Calvin-Benson [116]. Ταυτόχρονα συνεργάζεται και υποστηρίζει ενέργειακά με ATP άλλους μηχανισμούς του κυττάρου, όπως είναι για παράδειγμα οι μηχανισμοί συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα [82] ή ο μηχανισμός αφομοίωσης οργανικού άνθρακα [139] ή ο μηχανισμός αποδόμησης τοξικών ουσιών [101] κ.λ.π., για να

εξασφαλιστεί η εύρυθμη λειτουργία όχι μόνο του φωτοσυνθετικού μηχανισμού αλλά και ολόκληρου του κυττάρου [101].

Αν η έμφυτη αγωνία του επιστήμονα να ερευνήσει, και η προσπάθειά του να κατανοήσει τον εαυτό του και το περιβάλλον του είναι επιθυμητή, τότε η υποχρέωση της επιστημονικής κοινότητας να θέσει την παραγόμενη γνώση στην υπηρεσία του ανθρώπου είναι αυτονόητη. Ο τρόπος που το πραγματώνει είναι απλός. Παρέχει την τεχνογνωσία για εφαρμογές που εξυπηρετούν τις ανάγκες του, βελτιώνουν την ποιότητα ζωής του, και σέβονται το δικαίωμα των επόμενων γενεών να κληρονομήσουν ένα καλύτερο περιβάλλον για να ζήσουν. Η επιστημονική παρατήρηση όσο σημαντική και αν είναι δεν είναι ικανή από μόνη της να εξυπηρετήσει αυτήν την υποχρέωση. Η Φυσική έδειξε πρώτη το δρόμο και τον ακολούθησαν οι υπόλοιπες επιστήμες όπως η Βιολογία. Ο δρόμος αυτός δεν είναι άλλος από τη μαθηματική περιγραφή των φαινομένων που οδηγεί όχι μόνο στη συστηματοποίηση της επιστημονικής γνώσης αλλά και στη βαθύτερη κατανόηση των φαινομένων. Αν αναλογιστούμε ότι οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί εμφανίστηκαν στη Γη πριν από περίπου 3 δισεκατομμύρια χρόνια, δηλαδή στα αρχικά στάδια της ζωής της (η ηλικία της Γης εκτιμάται στα 4.54 δισεκατομμύρια χρόνια, ενώ ο άνθρωπος εκτιμάται ότι εμφανίστηκε στη Γη πριν από μόλις 500.000 χρόνια) μπορούμε να κατανοήσουμε ότι αυτοί οι «πανέξυπνοι» οργανισμοί έχουν καταγράψει στο DNA τους όχι μόνο την πολυτάραχη ζωή της Γης αλλά και τον τρόπο να επιβιώνουν οι ίδιοι και να εξασφαλίζουν την επιβίωση των οξυγονικά εξαρτημένων οργανισμών του πλανήτη. Σήμερα, περισσότερο από κάθε άλλη φορά, είναι επιβεβλημένη η κατά το δυνατόν ακριβέστερη μαθηματική μοντελοποίηση της δομής και της λειτουργίας αυτών των μικροοργανισμών με την ελπίδα να υπάρξουν ακόμη περισσότερες και πιο αποδοτικότερες εφαρμογές που θα ανακουφίσουν τον πλανήτη μας και θα βοηθήσουν να συνεχιστεί η ζωή στη Γη.

1.2 Μαθηματική Μοντελοποίηση

Η δόμηση αξιόπιστων μαθηματικών μοντέλων είναι μάλλον τέχνη παρά τεχνική, αφού βασίζεται στην έμπνευση του δημιουργού τους να απλοποιήσει βιολογικές διεργασίες και διαδικασίες χωρίς να χάσει την επαφή με την πραγματικότητα [91]. Το μαθηματικό μοντέλο πρέπει να περιγράφει αξιόπιστα τους μηχανισμούς που ευθύνονται για τη δομή και τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στη λειτουργία του υπό μελέτη βιολογικού συστήματος, δηλαδή πρέπει να είναι μηχανιστικό.

Η μεγάλη δυσκολία στη μαθηματική μοντελοποίηση των βιολογικών συστημάτων έγκειται στο γεγονός ότι καθετί εξαρτάται από οτιδήποτε άλλο. Κάθε παράγοντας που δεν λαμβάνεται υπόψη κατά τη μελέτη ενός βιολογικού συστήματος μπορεί τελικά να αποδειχτεί ότι επηρεάζει σημαντικά το σύστημα, οπότε κακώς αγνοήθηκε. Από την άλλη μεριά ο συνυπολογισμός όσο το δυνατόν

περισσότερων παραγόντων μεγιστοποιεί την πολυπλοκότητα του προβλήματος χωρίς να εξασφαλίζει την ακρίβεια της λύσης που θα προκύψει. Το ιδανικό στη μελέτη των βιολογικών συστημάτων είναι να αγνοήσει κανείς όσο το δυνατό περισσότερους παράγοντες χωρίς να χάσει τους ουσιαστικούς παράγοντες που επηρεάζουν το υπό μελέτη σύστημα [91].

Ο μοντελιστής καλείται να ξεπεράσει το δίλημμα της γενικότητας του μοντέλου έναντι της εξειδίκευσής του. Το γενικό μοντέλο έχει το πλεονέκτημα της απλότητας και της ευρείας εφαρμογής αλλά αδυνατεί να δώσει ακριβείς προβλέψεις σε επιμέρους εφαρμογές. Από την άλλη μεριά, το πολύ εξειδικευμένο μοντέλο έχει μεν το πλεονέκτημα των ακριβών εξειδικευμένων προβλέψεων αλλά δεν μπορεί να τύχει ευρείας εφαρμογής και είναι δύσχρηστο λόγω της εγγενούς του πολυπλοκότητας.

Ένας από τους σκοπούς της θεωρητικής βιολογίας είναι να συσχετίσει διαδικασίες που συμβαίνουν στα διαφορετικά επίπεδα οργάνωσης της ζωής δηλαδή στο επίπεδο των μορίων, των κυττάρων, των οργανισμών-ατόμων, των πληθυσμών και των οικοσυστημάτων. Επί παραδείγματι, ο κυτταρικός κύκλος μπορεί να περιγραφεί σε σχέση με μια σειρά από μοριακά συμβάντα και οι πληθυσμιακές δυναμικές μπορούν να βασιστούν στις δυναμικές των οργανισμών-ατόμων καθώς αυτοί αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον τους [121]. Οι ροές ενέργειας και μάζας που καθορίζονται από τους νόμους της θερμοδυναμικής γίνονται αντιληπτοί ευκολότερα στο επίπεδο του οργανισμού-ατόμου, ενόσω η εξέλιξη δρα καθοριστικά στην προετοιμασία για αναπαραγωγή και τη βιωσιμότητα των οργανισμών-ατόμων.

Επομένως, ένα γενικό μοντέλο που περιγράφει την πρόσληψη ενέργειας από ένα οργανισμό-άτομο και τη χρησιμοποίησή της για ανάπτυξη, αναπαραγωγή και επιβίωση έχει τη δυναμική να συνδεθεί με διαδικασίες που συμβαίνουν στα άλλα επίπεδα οργάνωσης. Σύμφωνα με τον Kooijman [91], το βασικό επίπεδο οργάνωσης της ζωής είναι το επίπεδο του οργανισμού-ατόμου (individual level) επειδή σε αυτό το επίπεδο οργάνωσης είναι σχετικά εύκολο να γίνουν ισοζύγια μάζας. Ας μην ξεχνάμε ότι οι νόμοι διατήρησης της μάζας και της ενέργειας είναι από τους λίγους ισχυρούς νόμους που διαθέτει η Βιολογία. Στο κυτταρικό και στο πληθυσμιακό επίπεδο είναι πολύ πιο δύσκολο να μετρηθούν και να μοντελοποιηθούν, απευθείας, οι ροές μάζας και ενέργειας. Εξάλλου ο οργανισμός-άτομο είναι συνήθως απομονωμένη οντότητα οπότε είναι σχετικά εύκολο να προσδιοριστούν σχέσεις ενεργειακών εισροών και εκροών, τουλάχιστον ποσοτικά.

Η περιγραφή της δομής και της λειτουργίας των οργανισμών στο επίπεδο του οργανισμού-ατόμου γίνεται από τα αποκαλούμενα ατομικά μοντέλα (individual models). Αναπτύσσοντας ένα αξιόπιστο και εύστοχο ατομικό μοντέλο μπορούμε στη συνέχεια να το χρησιμοποιήσουμε για να κάνουμε προβλέψεις σε πληθυσμιακό επίπεδο και σε επίπεδο οικοσυστήματος από τη μια και σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο από την άλλη [91].

Τα παραπάνω αναδεικνύουν την αναγκαιότητα μιας προσέγγισης για την περιγραφή του ενεργεια-

κού ισοζυγίου του οργανισμού-ατόμου που να βασίζεται στα δυναμικά φαινόμενα που καθορίζουν το ενεργειακό ισοζύγιο ενός οργανισμού-ατόμου και ονομάζεται δυναμικό μοντέλο ενεργειακού ισοζυγίου (Dynamic Energy Budget individual model). Τα μοντέλα αυτά (DEB μοντέλα) περιγράφουν μεταβολές στο χρόνο και βασίζονται στη θεωρία των δυναμικών ενεργειακών ισοζυγίων (Dynamic Energy Budgets theory).

Η θεωρία DEB υποστηρίζει την ανάπτυξη ατομικών μοντέλων δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου (DEB individual models). Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούν διαφορικές εξισώσεις για να περιγράψουν τους ρυθμούς με τους οποίους οι οργανισμοί-άτομα προσλαμβάνουν θρεπτικά συστατικά και ενέργεια, και τους ρυθμούς αφομοίωσης της δεσμευμένης ενέργειας και χρησιμοποίησής της για τη διατήρηση (maintenance), τη σωματική αύξηση (growth), την αναπαραγωγή (reproduction) και την ανάπτυξη (development) τους. Οι ρυθμοί αυτοί εξαρτώνται από την κατάσταση του οργανισμού-ατόμου (ηλικία, μέγεθος, φύλο, θρεπτική κατάσταση, κ.α.) και από το περιβάλλον του (πυκνότητα τροφής, θερμοκρασία, κ.α.). Οι λύσεις των εξισώσεων ενός μοντέλου DEB αναπαριστούν την πορεία του οργανισμού-ατόμου στη διάρκεια της ζωής του μέσα σε ένα δυναμικά μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Στη συνέχεια θα αναφερθούμε στις βασικές αρχές της θεωρίας DEB καθώς και σε ορισμούς και έννοιες που θα χρησιμοποιήσουμε για την ανάπτυξη των μοντέλων.

Το κύριο αντικείμενο της θεωρίας DEB είναι η διατύπωση ενός συνεχτικού πλαισίου εργασίας για την ποσοτικοποίηση των βιοενεργητικών που θα μας βοηθήσουν να συνδέσουμε τα διαφορετικά επίπεδα οργάνωσης της ζωής, από τα μόρια μέχρι τα οικοσυστήματα. Ο πυρήνας της θεωρίας είναι ένα μοντέλο για τις ενεργητικές ενός οργανισμού-ατόμου καθώς αυτός αλλάζει κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής του. Ο σκοπός της θεωρίας επιβάλλει να μην είναι είδος ειδικευμένο αυτό το μοντέλο και να σταθμίζει το κριτήριο: «γενικότητα» με σεβασμό στο «ρεαλισμό» και στην «απλότητα».

Κάποιος μπορεί να σκεφτεί ότι ένα τέτοιο γενικό μοντέλο καταλήγει σε ελλιπή προσαρμογή με τα πειραματικά δεδομένα, αλλά κάτι τέτοιο δεν ισχύει. Όλα τα μοντέλα που σχετίζονται με ενεργητικές πρέπει να διατυπώνονται σε σχέση με δυναμικά συστήματα ή τουλάχιστον να είναι δυνατή η αναμόρφωσή τους με αυτόν τον τρόπο. Το DEB μοντέλο ικανοποιεί αυτή την απαίτηση καθώς έχει μεταβλητές κατάστασης, εισόδου και εξόδου και σαφείς κανόνες για τις αλλαγές της κατάστασης. Για το λόγο αυτό είναι δυνατή η αναπαράσταση του ατόμου σαν ένα σημείο στη χωροκατάσταση που μετρείται με το υπό κλίμακα μήκος, την υπό κλίμακα πυκνότητα αποθέματος και συσσωρευμένης ζημιάς. Καθώς περνά ο χρόνος, το σημείο μετακινείται κατά μήκος της χωροκατάστασης. Τα άτομα εμφανίζονται με μηδενικό υπό κλίμακα μήκος, άπειρη υπό κλίμακα πυκνότητα αποθεμάτων και καθόλου ζημιά και εξαφανίζονται με το θάνατο. Σε έναν πληθυσμό υπάρχουν πολλά άτομα, έτσι πολλά σημεία μετακινούνται ταυτόχρονα κατά μήκος της χωροκατάστασης των ατόμων. Ο πληθυσμός μπορεί να παρακολουθηθεί σαν μια μεταβαλλόμενη κατανομή συχνότητας των ατόμων

στη χωροκατάσταση των ατόμων.

Η συνέπεια έχει προτεραιότητα έναντι του ρεαλισμού για τα μηχανιστικά μοντέλα. Πρώτον γιατί τα μοντέλα αυτά είναι εξιδιανικεύσεις, επομένως είναι αναμενόμενη κάποια έλλειψη ρεαλισμού και δεύτερον γιατί ο ρεαλισμός ενός ενδογενώς ασυνεπούς μοντέλου δεν μπορεί να είναι ικανοποιητικός λόγω της απουσίας σύνδεσης με επεξηγηματικούς μηχανισμούς. Η καλή προσαρμογή ενός μοντέλου σε ένα σετ πειραματικών δεδομένων δεν προσδίδει από μόνη της υποστήριξη στο μοντέλο, αφού ένας έμπειρος μοντελιστής ξέρει πολλούς τρόπους για να πετύχει την προσαρμογή του μοντέλου στο σετ των πειραματικών δεδομένων. Η έλλειψη ρεαλισμού δεν σημαίνει απαραίτητα ότι το μοντέλο είναι λάθος, είναι όμως μια καλή αφορμή για την αναθεώρηση των υποθέσεων του.

Οι ακρογωνιαίοι λίθοι της θεωρίας DEB είναι οι νόμοι διατήρησης της μάζας και της ενέργειας. Αυτό φαίνεται τετριμένο στους μη-Βιολόγους αλλά οι περισσότερες υπάρχουσες θεωρίες και μοντέλα στη φυσιολογία και στις πληθυσμιακές δυναμικές όχι μόνο δεν λαμβάνουν υπόψη τους αυτούς τους νόμους αλλά συχνά τους παραβιάζουν. Η εφαρμογή αυτών των νόμων σε ανοιχτά συστήματα, όπως οι ζωντανοί οργανισμοί, δεν είναι πάντα εύκολη.

Η υπόθεση ότι οι ροές μάζας είναι ανάλογες της επιφάνειας φαίνεται φυσιολογική και κάνει το λόγο επιφάνειας και σωματικής μάζας ιδιαιτέρως ενδιαφέρουσα. Η υπόθεση αυτή εισάγει ένα μορφολογικό στοιχείο στη μελέτη των ροών μάζας και ενέργειας. Εκτός από τη μάζα και την ενέργεια, ο χρόνος είναι επίσης μια διατηρητική ποσότητα. Τα ισοζύγια χρόνου έχουν κεντρικό ρόλο στη τροφοληπτική συμπεριφορά των οργανισμών. Αυτός ο νόμος διατήρησης είναι η βάση για την υπερβολική (Holling type II) λειτουργική απόχριση. Το σύστημα που προσλαμβάνει τροφή δεν αποδέχεται τα καταφθάνοντα κομμάτια της όταν αυτό είναι απασχολημένο με την επεξεργασία ενός άλλου κομματιού τροφής. Ένα στοιχείο συμπεριφοράς (επεξεργασία τροφής) αποκλείει, την ίδια στιγμή, ένα άλλο (πρόσληψη τροφής).

Η θεωρία DEB είναι πρωτόπορα από την άποψη ότι οι υποθέσεις της που αφορούν την οικοφυσιολογική συμπεριφορά των οργανισμών εφαρμόζεται σε όλα τα είδη και σε όλα τα στάδια ζωής, εκτός αν είναι προφανές από τη φύση της υπόθεσης ότι εφαρμόζεται μόνο σε μια περιορισμένη ομάδα ειδών ή/και σταδίων. Η σύγχριση των ειδών βοηθά στη διάχριση των ειδοεξειδικευμένων υποθέσεων από τις γενικές υποθέσεις. Η θεωρία DEB δομείται από μια μικρή λίστα υποθέσεων που μπορούν να ονομαστούν «μηχανιστικές».

Τα περιγραφικά μοντέλα εφαρμόζονται μόνο στις περιπτώσεις για τις οποίες φτιάχτηκαν ενώ τα μηχανιστικά μοντέλα μπορούν να σχεδιαστούν για νέες περιπτώσεις χρησιμοποιώντας συμπληρωματικές υποθέσεις που αφορούν τις περιπτώσεις αυτές. Η μαθηματική διατύπωση διαφέρει από περίπτωση σε περίπτωση αλλά οι μηχανιστικές υποθέσεις παραμένουν ίδιες.

Οι τύποι των υποθέσεων που χρησιμοποιούνται για την εξειδίκευση του μοντέλου DEB για

τον οργανισμό-άτομο υποδηλώνουν μια ιεραρχία στην οργάνωση του μεταβολισμού. Η ιεράρχηση στο μεταβολικό έλεγχο είναι μια βασική αρχή για την κατανόηση του γιατί ένα μοντέλο DEB είναι κατάλληλο για οργανισμούς που διαφέρουν στις ορμόνες που χρησιμοποιούν. Η αρχή υποδηλώνεται από τη χρήση γενικών συστατικών, όπως δομική βιομάζα και αποθέματα παρά ενεργά συστατικά όπως πρωτεΐνες. Θα ήταν ενδιαφέρον να ανακαλύψουμε σε πιο βαθμό αυτά τα ρυθμιστικά συστήματα δεν είναι ειδοξειδικευμένα.

Τα μοντέλα που έχουν μεγάλο αριθμό παραμέτρων είναι συνήθως ευέλικτα και μπορούν να προσαρμοστούν επιτυχώς σε κάθε σετ πειραματικών δεδομένων ακόμη και αν οι υποκείμενες υποθέσεις στερούνται ρεαλισμού. Για το λόγο αυτό καταβλήθηκε μεγάλη προσπάθεια ώστε να είναι όσο το δυνατό απλούστερο κάθε μοντέλο DEB.

Η δυνατότητα ελέγχου του μοντέλου για ρεαλισμό αυξάνει απότομα αν έχει ταυτόχρονη καλή προσαρμογή σε διαφορετικούς τύπους πειραματικών δεδομένων. Αν τα πειραματικά δεδομένα περιλαμβάνουν π.χ. μόνο το βάρος συναρτήσει της ηλικίας, η επιτυχής προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα δεν παρέχει υποστήριξη στην ορθότητά του αφού απουσιάζει η γνώση για τη διαθεσιμότητα τροφής, το ρυθμό τροφοληψίας, την αναπνοή, τη θερμοκρασία κ.α. Αν όμως τα πειραματικά δεδομένα περιλαμβάνουν πληροφορίες για όλες αυτές τις ποσότητες και η ταυτόχρονη προσαρμογή στα δεδομένα εξακολουθεί να είναι ικανοποιητική, η υποστήριξη της ορθότητας αυξάνει σημαντικά.

Μια ενδιαφέρουσα όψη της θεωρητικής δουλειάς είναι η ταξινόμηση των υποθέσεων σε γενικές και ειδικές. Οι γενικές υποθέσεις του μοντέλου DEB εξασφαλίζουν τη θεωρητική βάση για το συνδυασμό μάζας - ενέργειας και για την εμπειρική μέθοδο της έμμεσης θερμιδομέτρησης. Οι ειδικές υποθέσεις μπορούν να αλλάζουν χωρίς να επηρεάζεται η θεωρητική βάση ενώ κάθε προσπάθεια αλλαγής των γενικών υποθέσεων επιφέρει αλλαγές στις ειδικές υποθέσεις. Μπορούμε να αλλάξουμε τις ειδικές υποθέσεις και να μελετήσουμε τις συνέπειες στην απόδοση του συστήματος ενώ χρειαζόμαστε ισχυρά επιχειρήματα για να αλλάξουμε τις γενικές υποθέσεις. Οι σωστές προβλέψεις για τη σχέση του υπό κλίμακα μεγέθους σώματος θεωρείται η ισχυρότερη εμπειρική υποστήριξη για το αν το μοντέλο DEB πιάνει τα κύρια χαρακτηριστικά των ζωικών ενεργητικών αρκετά ρεαλιστικά.

Η δυνατότητα ελέγχου δεν είναι μια ιδιότητα μόνο της θεωρίας αλλά της θεωρίας σε συνδυασμό με τις πειραματικές διατάξεις και τα πειραματικά δεδομένα. Επιπλέον, η δυνατότητα ελέγχου υπόκειται σε διαβάθμιση. Είναι απλούστερο να μελετήσουμε τις διάφορες επιμερισμένες διαδικασίες μία-μία, παρά να μελετήσουμε κατευθείαν το συνδυασμό των διαδικασιών.

Κάθε μοντέλο DEB χρησιμοποιεί τόσο μεταβλητές κατάστασης όσο και περιβαλλοντικές μεταβλητές. Οι μεταβλητές κατάστασης είναι μεγέθη που καταγράφουν την κατάσταση του οργανισμού-ατόμου στην πορεία του χρόνου. Το μέγεθος του οργανισμού καταγράφεται από τη μεταβλητή κατάστασης V που ονομάζεται βιοόγκος και είναι ο όγκος των δομικών και λειτουργικών του ιστών.

Ένας όγκος (οργανισμός - άτομο) που ζει μέσα σε έναν άλλο όγκο (περιβάλλον) είναι περιορισμένος να επικοινωνεί με αυτόν μέσω της επιφάνειάς του. Η σωματική επιφάνεια (surface area) του οργανισμού-ατόμου είναι συνάρτηση του βιοόγκου του. Για την ποσοτικοποίηση των ενεργητικών του οργανισμού ατόμου χρησιμοποιούνται, η σωματική επιφάνεια για τις διαδικασίες απόκτησης και ο βιοόγκος για τις διαδικασίες διατήρησης. Από μόνος του ο βιοόγκος ν δεν επαρκεί για να περιγράψει την κατάσταση του οργανισμού-ατόμου για τρεις λόγους. Πρώτον, γιατί απαιτείται ενέργεια για τη διατήρησή του ακόμη και όταν δεν υπάρχει τροφή ή αυτή που υπάρχει δεν επαρκεί. Δεύτερον, γιατί οι οργανισμοί-άτομα αντιδρούν αργά στις αλλαγές των συνθηκών τροφής και τρίτον γιατί οι οργανισμοί - άτομα που αναπτύσσονται σε ευτροφικές συνθήκες (περιβάλλον πλούσιο σε τροφή) έχουν διαφορετική σωματική σύσταση από αυτούς που αναπτύσσονται ολιγοτροφικές συνθήκες (περιβάλλον που είναι φτωχό σε τροφή) [91]). Το ενέργειακό απόθεμα του οργανισμού-ατόμου καταγράφεται από τη μεταβλητή κατάστασης Ε που ονομάζεται αναπληρούμενο ενέργειακό απόθεμα και είναι η ενέργεια που βρίσκεται αποθηκευμένη στους αποθηκευτικούς του ιστούς. Η ηλικία του οργανισμού-ατόμου δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μεταβλητή κατάστασης που θα περιγράψει την ανάπτυξη του οργανισμού αφού δεν μπορεί να συνδυάσει την ανάπτυξη του οργανισμού-ατόμου με την πρόσληψη και τη χρησιμοποίηση της τροφής. Οι περιβαλλοντικές μεταβλητές είναι μεγέθη που καταγράφουν τις συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσεται ο οργανισμός - άτομο. Τέτοια μεγέθη είναι η πυκνότητα τροφής, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος, η φωτεινή ένταση, η αλατότητα κ.α. Οι περιβαλλοντικές μεταβλητές μπορούν να παραμένουν χωροχρονικά σταθερές ή να μεταβάλλονται.

Τα συστατικά που χρησιμοποιούν τα κύτταρα, για να εξυπηρετήσουν το μεταβολισμό τους, απαιτούν ένζυμα για το χημικό τους μετασχηματισμό. Το κύτταρο συνθέτει τα κατάλληλα ένζυμα και έτσι εξασφαλίζει τον πλήρη έλεγχο όλων των χημικών μετασχηματισμών που συμβαίνουν στο εσωτερικό του [91]. Η ομοιόσταση, δηλαδή η σταθερή χημική σύσταση είναι σημαντική προκειμένου να επιτευχθεί ο πλήρης έλεγχος. Οι αλλαγές στο περιβάλλον των κυττάρων που σχετίζονται με τη χωροχρονική διαθεσιμότητα των θρεπτικών απαιτεί την ύπαρξη αναπληρούμενων ενέργειακών αποθεμάτων που θα εξασφαλίσουν τον ανεφοδιασμό του κυττάρου με τα συστατικά που είναι απαραίτητα για το μεταβολισμό. Τα αναπληρούμενα ενέργειακά αποθέματα (Ε) χρησιμοποιούνται για τις φυσιολογικές λειτουργίες του κυττάρου και αναπληρώνονται συνεχώς κατά την διάρκεια της κυτταρικής λειτουργίας. Αν το κύτταρο παράγει, περιστασιακά, μεγαλύτερη ποσότητα ενέργειακών αποθεμάτων από αυτή που χρησιμοποιεί, τότε μετατρέπει το πλεόνασμα σε πολυμερή συστατικά. Τα πολυμερή αυτά δεν είναι διαλυτά στο κυτταρόπλασμα και δεν επηρεάζουν ούτε την οσμωτική του πίεση ούτε τη χημική δράση των μονομερών συστατικών των ενέργειακών αποθεμάτων.

Τα δομικά και λειτουργικά συστατικά (V), όπως οι πρωτεΐνες, αποδομούνται και δομούνται συνε-

χώς αλλά δεν χρησιμοποιούνται για το μεταβολισμό παρά μόνο σε περιπτώσεις παντελούς έλλειψης τροφής και αφού τελειώσουν τα ενεργειακά αποθέματα του χυτάρου. Η θεωρία DEB υποθέτει ότι η χημική σύσταση τόσο των ενεργειακών αποθεμάτων όσο και των δομικών και λειτουργικών συστατικών παραμένει αμετάβλητη. Η υπόθεση αυτή ονομάζεται «υπόθεση της ισχυρής ομοιόστασης» (strong homeostasis assumption) και αποτελεί τη βάση για την ποσοτικοποίηση του μεγέθους του οργανισμού-άτομου.

Η ποσότητα τόσο των ενεργειακών αποθεμάτων όσο και των δομικών και λειτουργικών συστατικών του χυτάρου μεταβάλλεται στην πορεία του χρόνου ή/και όταν αλλάζουν οι συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσεται ο οργανισμός. Επίσης, η ποσότητα των αποθεμάτων μπορεί να αλλάζει σε σχέση με την ποσότητα των δομικών και λειτουργικών συστατικών του χυτάρου. Αυτό σημαίνει ότι η σύσταση του οργανισμού, γενικά, δεν παραμένει σταθερή. Η θεωρία DEB υποθέτει ότι η ομοιόσταση ισχύει σε όλο τον οργανισμό-άτομο από τη γέννηση μέχρι το θάνατο αν η πυκνότητα της τροφής είναι σταθερή και τα ενεργειακά αποθέματα είναι σε ισορροπία. Η υπόθεση αυτή ονομάζεται «υπόθεση ασθενούς ομοιόστασης» (weak homeostasis assumption) και ισχύει μόνο σε καταστάσεις ισορροπίας σε αντίθεση με την strong homeostasis assumption που ισχύει σε κάθε περίπτωση. Η ομοιόσταση προσφέρει τη λύση στο πρόβλημα του καθορισμού και της μέτρησης ελεύθερων ενεργειών και εντροπιών. Η λύση βασίζεται στην υπόθεση ότι η ελεύθερη ενέργεια ανά μολ άνθρακα της δομικής βιομάζας και η ελεύθερη ενέργεια ανά μολ άνθρακα των ενεργειακών αποθεμάτων είναι σταθερές, δηλαδή δεν εξαρτώνται από την ποσότητα της δομικής βιομάζας και των ενεργειακών αποθεμάτων.

Τα θρεπτικά συστατικά (στη συνέχεια αναφέρονται με τον όρο υποστρώματα) που προσλαμβάνει ο οργανισμός-άτομο διακρίνονται σε συμπληρωματικά και υποκαθιστούμενα. Δύο υποστρώματα είναι συμπληρωματικά (supplementary) αν είναι και τα δύο απαραίτητα, σε συγκεκριμένη στοιχειομετρική αναλογία, σε μια χημική αντίδραση. Π.χ. για τη σύνθεση των αμινοξέων απαιτούνται τόσο το διοξείδιο του άνθρακα όσο και η αμμωνία και μάλιστα σε συγκεκριμένη στοιχειομετρική αναλογία για τη σύνθεση κάθε αμινοξέος. Αυτό είναι σημαντικό στις συνθέσεις γιατί η απουσία του ενός υποστρώματος εμποδίζει την πρόσληψη του άλλου. Σύμφωνα με τον κανόνα του ελαχίστου του Liebig το υπόστρωμα που είναι σε έλλειψη καθορίζει (περιορίζει) την ποσότητα του σε περίσσεια υποστρώματος που θα αντιδράσει, με βάση βέβαια τη στοιχειομετρική αναλογία. Ο κανόνας του ελαχίστου δεν ισχύει για την ανάπτυξη του χυτάρου, εφόσον βέβαια υπάρχουν επαρκή ενεργειακά αποθέματα που θα παράσχουν τα απαραίτητα υποστρώματα για τη σύνθεση νέας βιομάζας παρόλο που κάποιο ή κάποια από αυτά απουσιάζουν από το περιβάλλον του χυτάρου.

Δύο υποστρώματα χαρακτηρίζονται υποκαθιστούμενα (substitutable) αν μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε το ένα είτε το άλλο για να συντεθεί ένα συγκεκριμένο προϊόν. Π.χ. Αρκετοί οργανισμοί

μπορούν να χρησιμοποιήσουν διάφορα αζωτούχα υποστρώματα (αμμωνία ή/και νιτρικά άλατα ή/και αμίνες ή/και αμινοξέα) κατά την αφομοίωση, σαν πηγή αζώτου.

Οι κλασσικές κινητικές των ενζύμων συσχετίζουν τις ροές των προϊόντων με τις συγκεντρώσεις των υποστρωμάτων (αντιδρώντων). Αυτό συνδέει αλυσιδωτά δύο διαφορετικές διαδικασίες: τη διαδικασία άφιξης των μορίων των υποστρωμάτων στις περιοχές δέσμευσης των μορίων των ενζύμων και τη διαδικασία μετασχηματισμού των δεσμευμένων μορίων των υποστρωμάτων σε προϊόντα.

Η ψεωρία DEB χρησιμοποιεί, για την ποσοτικοποίηση των κινητικών, ροές υποστρωμάτων αντί για συγκεντρώσεις για τους εξής λόγους. 1. Σε ομογενή περιβάλλοντα οι ρυθμοί άφιξης των μορίων των υποστρωμάτων είναι ανάλογοι με τις συγκεντρώσεις τους, εφόσον η μεταφορά τους γίνεται με διάχυση. Η μοντελοποίηση της ανάπτυξης συναρτήσει των συγκεντρώσεων των υποστρωμάτων είναι δύσκολη επειδή τα απορριπτόμενα μόρια υποστρωμάτων επιστρέφουν στο περιβάλλον κάτι που κάνει δύσκολο, αν όχι αδύνατο, τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων. 'Όταν όμως η ανάπτυξη μοντελοποιείται συναρτήσει των ροών των αποθεμάτων το πρόβλημα λύνεται γιατί αυτή η διαδικασία αναπαριστά αφίξεις και αντικαθιστά τη μεταφορά με διάχυση. 2. Η έννοια της συγκέντρωσης είναι μάλλον προβληματική σε περιβάλλοντα που εμφανίζουν υψηλό βαθμό χωρικής δόμησης, όπως είναι το περιβάλλον στο εσωτερικό των αναπτυσσόμενων κυττάρων, όπου πολλοί χημικοί μετασχηματισμοί γίνονται με τη μεσολάβηση των ενζύμων που είναι συνδεμένα σε μεμβράνες. 3. 'Όταν σκεφτόμαστε με ροές, και όχι με συγκεντρώσεις, έχουμε τη δυνατότητα να μεταχειριστούμε το φως με τρόπο παρόμοιο με αυτόν που χρησιμοποιούμε για το χειρισμό των χημικών ουσιών. Ποσοτικοποιώντας το φως σαν φωτεινή ροή (mol φωτονίων ανά δευτερόλεπτο) μπορούμε, στη συνέχεια, να το εισάγουμε στις φωτοχημικές εξισώσεις χρησιμοποιώντας και στοιχειομετρικούς συντελεστές όπως ακριβώς και με τις χημικές ουσίες. 4. Οι συγκεντρώσεις αφορούν καταστάσεις του υπό μελέτη συστήματος. Ο συνυπολογισμός των συγκεντρώσεων των ενδιάμεσων μεταβολιτών σε ένα μεταβολικό μονοπάτι αυξάνει τον αριθμό των μεταβλητών κατάστασης του συστήματος. Το πρόβλημα αυτό παρακάμπτεται αν χρησιμοποιήσουμε ροές υποστρωμάτων γιατί τότε οι ενδιάμεσοι μεταβολίτες δεν συσσωρεύονται.

Η εφαρμογή των κλασσικών χημικών και ενζυμικών κινητικών στον κυτταρικό μεταβολισμό παρουσιάζει προβλήματα που επιβάλλουν την εύρεση εναλλακτικών κινητικών. Η επινόηση της «συνθετικής μονάδας» (SU) είναι μια ελπιδοφόρα απόπειρα σε αυτή την κατεύθυνση [93]. Η SU εκλαμβάνεται σαν ένα ένζυμο ή ένα σύμπλοκο ενζύμων που συμπεριφέρεται σύμφωνα με τους κανόνες σχηματισμού και αποδόμησης, όπως αυτοί καθορίζονται από τις κλασσικές κινητικές, με δύο τροποποιήσεις. α) Οι κινητικές δεν εκφράζονται συναρτήσει των συγκεντρώσεων των υποστρωμάτων αλλά συναρτήσει των ροών με τις οποίες καταφθάνουν τα μόρια των υποστρωμάτων στο ένζυμο και β) το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος δεν αποδομείται, δηλαδή το ένζυμο απελευθερώνεται μετά το σχηματισμό του προϊόντος από το υπόστρωμα. Κάθε κύκλος λειτουργίας της SU αποτελεί-

ται από την περίοδο δέσμευσης (binding period) του υποστρώματος και την περίοδο επεξεργασίας (production period) του δεσμευμένου υποστρώματος για να παραχθεί το προϊόν.

Η χρησιμότητα των δύο τροποποιήσεων δεν αναδεικνύεται στις απλές μετατροπές (ένα μόριο υποστρώματος δίνει ένα μόριο προϊόντος σε ομογενές περιβάλλον) αλλά σε πολύπλοκες καταστάσεις όπου το τοπικό περιβάλλον δεν είναι ομογενές ή οι μετατροπές είναι σύνθετες, όπως όταν αναλυθεί παρακάτω. Οι κινητικές Michaelis-Menten που θεωρούν ότι οι ρυθμοί παραγωγής προϊόντων είναι υπερβολικές συναρτήσεις της συγκέντρωσης του υποστρώματος υποστηρίζονται και από την έννοια της SU. Αν οι αφίξεις των μορίων των υποστρωμάτων οφείλονται σε διάχυση ή σε αγωγή σε ένα ομογενές περιβάλλον, οι ρυθμοί παραγωγής είναι ανάλογοι της συγκέντρωσης του υποστρώματος. Οι αφίξεις των μορίων των υποστρωμάτων μπορεί επίσης να οφείλονται σε ενδοκυτταρική διαδικασία κατανομής που σχετίζεται με τους μεταβολικούς μετασχηματισμούς. Οι ροές άφιξης υποδηλώνουν την ύπαρξη και ροών απόρριψης μορίων του υποστρώματος με συγκεκριμένο προορισμό. Αυτό τοποθετεί την κατανομή των ροών σε κεντρική θέση όσον αφορά την οργάνωση του μεταβολισμού.

Η SU μπορεί να έχει διάφορες μορφές, ανάλογα με τη λειτουργία της, οι οποίες αναλύονται παρακάτω [90]. 1. Συνθετική μονάδα ενός υποστρώματος—ενός αντίγραφου (1-SU): Στην απλούστερη μορφή της, η SU, δεσμεύει ένα μόριο υποστρώματος και παράγει ένα μόριο προϊόντος ή μια ομάδα προϊόντων. Χάριν απλότητας υποθέτουμε, ότι τα μόρια του υποστρώματος καταφθάνουν στη συνθετική μονάδα ακολουθώντας κατανομή Poisson και ότι η διάρκεια του σταδίου δέσμευσης (binding stage) και του σταδίου επεξεργασίας (production stage) είναι χρονικά διαστήματα που ακολουθούν εκθετική κατανομή. Επίσης, ότι η δέσμευση των μορίων του υποστρώματος συμβαίνει με πιθανότητα ρ αν η SU βρίσκεται στο στάδιο δέσμευσης (binding stage) και μηδέν αν η SU βρίσκεται στο στάδιο επεξεργασίας (production stage).

Έστω $\phi_{t_Y}(t) = \dot{J}_m \cdot e^{-\dot{J}_m \cdot t}$ η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας (σππ) της περιόδου επεξεργασίας και η σππ $\phi_{t_1}(t) = \dot{J}_X \cdot e^{-\dot{J}_X \cdot t}$ της περιόδου δέσμευσης των μορίων του υποστρώματος που καταφθάνουν με ρυθμό $\dot{J}_X^* = \dot{J}_X/p$, όπου p είναι η πιθανότητα δέσμευσης ανά μόριο υποστρώματος που καταφθάνει στην SU. Η περίοδος ενός κύκλου λειτουργίας της SU, t_0 , περιλαμβάνει την περίοδο δέσμευσης και την περίοδο επεξεργασίας. Το αντίστροφο της αναμενόμενης τιμής της t_0 , $\dot{J}_Y = 1/\mathcal{E}t_0$, είναι ίσο με το μέσο ρυθμό παραγωγής, που ονομάζεται ροή. Η SU απορρίπτει, τα καταφθάνοντα με κατανομή Poisson μόρια του υποστρώματος, με κατανομή Poisson και με ροή που εναλλάσσεται μεταξύ των τιμών $(1-p)\dot{J}_X^*$ και \dot{J}_X^* ανάλογα με το αν βρίσκεται σε περίοδο δέσμευσης ή περίοδο επεξεργασίας αντίστοιχα. Η παραγωγή προϊόντων είναι μια επαναλαμβανόμενη διαδικασία με ροή $\dot{J}_Y = (\dot{J}_m^{-1} + \dot{J}_X^{-1})^{-1}$. Η μέση ροή των απορριπτόμενων μορίων υποστρώματος είναι ίση με $\dot{J}_X^* - \dot{J}_Y$. Οι διαδικασίες απόρριψης μορίων υποστρώματος και παραγωγής μορίων προϊόντος είναι αμοιβαία εξαρτημένες. Αν το υπό μελέτη σύστημα διαθέτει ένα μεγάλο πλήθος, s ,

από ανεξάρτητες ενεργές SU, το κεντρικό οριακό θεώρημα για την πρόσθεση ανεξάρτητων στοχαστικών σημειακών διαδικασιών καθορίζει ότι, τα απορριπτόμενα μόρια υποστρώματος και τα παραγόμενα μόρια συγκλίνουν σε ανεξάρτητες διαδικασίες Poisson με σταθερές εντάσεις $\dot{J}_X^* - \dot{J}_Y$ και $\dot{J}_Y = ((s \cdot \dot{J}_m)^{-1} + \dot{J}_X^{-1})^{-1}$, αντίστοιχα.

Η συνθετική μονάδα ενός υποστρώματος—ενός αντίγραφου (1-SU) μπορεί να γενικευτεί για περισσότερα αντίγραφα υποστρώματος με την απαίτηση ότι η χρονική στιγμή t_1 κατά την οποία η SU εισέρχεται στο στάδιο επεξεργασίας της είναι η στιγμή της δέσμευσης του n -οστού αντίγραφου του υποστρώματος, $t_1 = t_{X_n}$. Μια τέτοια SU θα ονομάζεται ενός υποστρώματος—πολλαπλών αντιγράφων συνθετική μονάδα (n -SU). Η περίοδος δέσμευσης ακολουθεί Erlangian κατανομή $\phi_{t_1}(t) = \frac{\dot{J}_X \cdot (\dot{J}_X \cdot t)^{n-1}}{(n-1)!} \cdot e^{-\dot{J}_X \cdot t}$ που έχει μέση τιμή $\mathcal{E}t_1 = n\dot{J}_X^{-1}$. Το αποτέλεσμα αυτό προκύπτει από την πρόσθεση n ανεξάρτητων εκθετικά κατανεμημένων τυχαίων μεταβλητών με παράμετρο \dot{J}_X . Η διαδικασία παραγωγής είναι και πάλι μια επαναλαμβανόμενη διαδικασία με ροή $\dot{J}_Y = (\dot{J}_m^{-1} + n\dot{J}_X^{-1})^{-1}$. Ένα μεγάλο πλήθος από s ανεξάρτητες n -SUS θα παράγει σε σειρά Poisson μόρια προϊόντος με ροή $\dot{J}_Y = ((s \cdot \dot{J}_m)^{-1} + n\dot{J}_X^{-1})^{-1}$ και σε σειρά Poisson απορριπτόμενα μόρια του υποστρώματος με ροή $\dot{J}_X^* - n\dot{J}_Y$.

Η συνθετική μονάδα πολλαπλών υποστρωμάτων—πολλαπλών αντιγράφων, n_1, n_2, \dots, n_n -SU, απαιτεί n διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων για την παραγωγή ενός μορίου ή μιας ομάδας μορίων προϊόντος Y . Οι κινητικές της διαδικασίας παραγωγής βασίζονται στην ιδέα ότι η SU μπορεί να εισέλθει στο στάδιο παραγωγής μόνο αν έχουν δέσμευτεί όλα τα απαιτούμενα μόρια των υποστρωμάτων. Για τη δέσμευση των μορίων των πολλαπλών υποστρωμάτων υπάρχουν δύο διαφορετικές εκδοχές, η σειριακή και η παράλληλη δέσμευση. Όταν η SU δεσμεύει n διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων σειριακά, σε τυχαία σειρά, το αναμενόμενο χρονικό διάστημα για τη δέσμευση του n_i μορίου του υποστρώματος τύπου i είναι ίσο με n_i/\dot{J}_{X_i} . Δεν έχει σημασία η σειρά με την οποία δεσμεύονται οι διαφορετικοί τύποι υποστρωμάτων όμως, όταν η SU δεσμεύει μόρια του υποστρώματος τύπου i συνεχίζει μέχρι να δεσμεύσει όλα τα μόρια αυτού του υποστρώματος που είναι απαραίτητα για το σχηματισμό ενός μορίου του προϊόντος. Το αναμενόμενο χρονικό διάστημα για την περίοδο δέσμευσης είναι το άθροισμα των περιόδων δέσμευσης των διαφορετικών τύπων υποστρωμάτων, δηλαδή: $\mathcal{E}t_1 = \sum_{i=1}^n n_i/\dot{J}_{X_i}$. Ο μέσος ρυθμός παραγωγής της SU είναι ίσος με $\dot{J}_Y = (\dot{J}_m^{-1} + \sum_i n_i/\dot{J}_{X_i})^{-1}$. Αν οι αφίξεις των υποστρωμάτων οφείλονται σε διάχυση ή μεταγωγή, οι ροές είναι ανάλογες των συγκεντρώσεων των υποστρωμάτων στο τοπικό περιβάλλον, οπότε ο ρυθμός παραγωγής της SU γίνεται $\dot{J}_Y = \dot{J}_m(1 + \sum_i X_{K_i}/X_i)^{-1} = \dot{J}_m \cdot f_n$, όπου X_{K_i} είναι η σταθερά ημικορεσμού που εκφράζει την ελκυστική ικανότητα της SU στο υπόστρωμα τύπου i και f_n είναι η λειτουργική απόκριση της SU για τους n τύπους υποστρωμάτων. Η f_n παίρνει τιμές από 0 έως 1 και έχει αναδρομικό τύπο $f_n = \frac{X_n f_{n-1}}{X_n + X_{K_n} f_{n-1}}$, με $f_0 = 1$ και $n = 0, 1, 2, \dots$, ή αλλιώς $f_n = \Pi_i X_i (\Pi_i X_i + \sum_i X_{K_i} \Pi_{j \neq i} X_j)^{-1}$.

Κατά την παράλληλη δέσμευση, η δέσμευση από την SU ενός τύπου υποστρώματος δεν παρεμποδίζει τη δέσμευση ενός άλλου τύπου υποστρώματος. Η SU δεν θα δεσμεύσει ένα προσερχόμενο μόριο του υποστρώματος τύπου i μόνο αν έχει ήδη δεσμεύσει όλα τα μόρια αυτού του τύπου που απαιτούνται για την παραγωγή του προϊόντος αλλά πρέπει να δεσμεύσει μόρια άλλου τύπου υποστρώματος ή όταν βρίσκεται στο στάδιο επεξεργασίας. Έστω t_{x_i} η χρονική στιγμή της δέσμευσης του n_i -στού μορίου του υποστρώματος τύπου i και $t_1 = \max_i\{t_{x_i}\}$ η χρονική στιγμή που έχουν δεσμευτεί όλα τα απαιτούμενα μόρια των υποστρωμάτων και αρχίζει το στάδιο επεξεργασίας. Η συνάρτηση κατανομής της περιόδου δέσμευσης t_1 είναι $\Phi_{t_1}(t) = \prod_{i=1}^n \Phi_{t_{x_i}}(t) = \prod_{i=1}^n \int_0^t \phi_{t_{x_i}}(t_1) dt_1 = \prod_{i=1}^n P(n_i, t \hat{J}_{x_i})$, όπου $P(n, t) = \frac{1}{\Gamma(n)} \int_0^t e^{-t_1} \cdot t_1^{n-1} dt_1 = 1 - e^{-t} \sum_{j=0}^{n-1} \frac{n^j}{j!}$ είναι η ατελής συνάρτηση Γάμμα.

Η αναμενόμενη τιμή για την περίοδο δέσμευσης της SU είναι ίση με $\mathcal{E}t_1 = \int_0^\infty (1 - \Phi_{t_1}(t)) dt = \int_0^\infty (1 - \prod_{i=1}^n P(n_i, t \hat{J}_{X_i})) dt$. Η αναμενόμενη τιμή για την περίοδο λειτουργίας της SU είναι ίση με $\mathcal{E}t_0 = \hat{J}_m^{-1} + \mathcal{E}t_1$. Ο μέσος ρυθμός παραγωγής της SU είναι $\hat{J}_Y = (\hat{J}_m^{-1} + \mathcal{E}t_1)^{-1}$ και για ένα μεγάλο πλήθος από s ανεξάρτητες SUs $\hat{J}_Y = ((s\hat{J}_m)^{-1} + \mathcal{E}t_1)^{-1}$. Ο ρυθμός με τον οποίο απορρίπτονται τα μόρια του υποστρώματος τύπου i είναι ίσος με $\hat{J}_{X_i}^* - n_i \hat{J}_Y$, όπου $\hat{J}_{X_i}^* = \hat{J}_{X_i}/p_i$ είναι η ροή με την οποία καταφυλάνουν στην SU τα μόρια του υποστρώματος τύπου i , και δεσμεύονται με πιθανότητα p_i αν αυτή βρίσκεται στο στάδιο δέσμευσης.

Μια ενδιαιφέρουσα εφαρμογή του μοντέλου της SU είναι ο συνδυασμός της με μεταφορείς (Carriers). Ο μεταφορέας είναι μια 1-SU με εξειδικευμένη λειτουργία. Ο μεταφορέας προσλαμβάνει μόρια υποστρωμάτων που βρίσκονται έξω από το κύτταρο ή έξω από το υπό μελέτη κυτταρικό οργανίδιο και παρέχει προϊόντα σε μια ομάδα από s SUs που βρίσκονται μέσα στο κύτταρο ή το οργανίδιο. Η ροή των μορίων του υποστρώματος προς το μεταφορέα είναι ανάλογη με τη συγκέντρωσή του υποστρώματος στο τοπικό περιβάλλον. Το προϊόν του μεταφορέα μπορεί να είναι το ίδιο με το υπόστρωμα που προσλαμβάνει, οπότε η λειτουργία του περιορίζεται στο να εισάγει το υπόστρωμα από το περιβάλλον του κυττάρου μέσα στο κύτταρο ή μπορεί να είναι διαφορετικό. Θεωρούμε ότι η δόμηση και αποδόμηση του υποστρώματος—μεταφορέα είναι μια διαδικασία πολύ γρήγορη σε σχέση με τις μεταβολές της συγκέντρωσης του υποστρώματος στο περιβάλλον. Το σύμπλοκο CSU παράγει είτε ένα προϊόν είτε μια ομάδα διαφορετικών προϊόντων.

Οι SUs μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ποσοτικοποίηση της παραγωγής γενικευμένων προϊόντων, δηλαδή μειγμάτων που περιέχουν διαφορετικά συστατικά σε συγκεκριμένη αναλογία, όπως η βιομάζα που βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο της ομοιόστασης. Οι χημικοί συντελεστές για τα διαφορετικά χημικά στοιχεία τέτοιων γενικευμένων προϊόντων εκφράζονται συνήθως συναρτήσει του άνθρακα και θεωρούνται σταθεροί. Η χρησιμότητα της εφαρμογής της SU στη μοντελοποίηση της ανάπτυξης του φυτοπλαγκτού, που υπόκειται σε ταυτόχρονους περιορισμούς θρεπτικών, φαίνεται και στα ατομικά μοντέλα που αναπτύχθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας. Η διαδικασία

της αφομοίωσης καθορίζεται από το μετασχηματισμό των υποστρωμάτων που αντλούνται από το περιβάλλον σε αποθέματα μέσα στον οργανισμό. Η αφομοίωση περιλαμβάνει διαδικασίες μεταφοράς που συνδέονται με το μέγεθος μιας επιφάνειας (μεμβράνες). Η θεωρία DEB παίρνει αυτήν την επιφάνεια ανάλογη με την επιφάνεια του οργανισμού-ατόμου δηλαδή ανάλογη του βιοόγκου^{2/3} για ισομορφικούς οργανισμούς [93]. Οι αλλαγές στο σχήμα του οργανισμού κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής του επηρεάζουν την αφομοίωση. Για οργανισμούς που δεν είναι ισομορφικοί (π.χ. *V₀*-μορφής, *V₁*-μορφής) χρησιμοποιείται η συνάρτηση διόρθωσης σχήματος για να γίνουν οι απαραίτητοι μετασχηματισμοί. Οι δυναμικές των αποθεμάτων αποτελούν τον πυρήνα του μοντέλου DEB [93]. Η αφομοίωση τείνει να αυξήσει την ποσότητα των ενεργειακών αποθεμάτων ενώ η χρησιμοποίηση τους τείνει να τη μειώσει. Ο ρυθμός χρησιμοποίησης των ενεργειακών αποθεμάτων (καταβολικός ρυθμός) εξαρτάται από το μέγεθος του οργανισμού-ατόμου και την ποσότητα των ενεργειακών αποθεμάτων.

1.3 Δομή της Διδακτορικής διατριβής

Ο στόχος της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής είναι η μαθηματική μοντελοποίηση ρυθμιστικών μηχανισμών των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών. Σε πρώτη φάση μοντελοποιήθηκαν οι προσαρμοστικοί μηχανισμοί των μικροοργανισμών σε συνθήκες σταθερής φωτεινής έντασης και σταθερής συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα (Εγκλιματισμός). Το ατομικό μοντέλο που προέκυψε και ο έλεγχος του με πειραματικά δεδομένα από τη διεύνη βιβλιογραφία παρατίθενται στο Κεφάλαιο 2. Στη συνέχεια μοντελοποιήθηκαν οι προσαρμοστικοί μηχανισμοί του οργανισμού σε συνθήκες μεταβαλλόμενης φωτεινής έντασης ή/και συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα (Προσαρμογή). Το ατομικό μοντέλο που προέκυψε ελέγχθηκε με πειραματικά δεδομένα που πήραμε από μετρήσεις επαγγελματικού φυσορισμού και παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου σε καλλιέργειες του μονοκύτταρου μικροφύκους *Scenedesmus obliquus*, ενώ στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση ευαισθησίας του μοντέλου στις πλέον κρίσιμες παραμέτρους του. Η εργασία αυτή παρατίθεται στο Κεφάλαιο 3. Στο Κεφάλαιο 4 παρατίθεται το πληθυσμιακό μοντέλο του φωτοσυνθετικού μικροοργανισμού στη στήλη του νερού. Το μοντέλο αυτό είναι βασισμένο στο ατομικό μοντέλο της προσαρμογής και στις δυναμικές των θρεπτικών και του φωτός. Στο Κεφάλαιο 5 παρατίθεται μια εφαρμογή του ατομικού μοντέλου της προσαρμογής στη βιοαποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων.

Κεφάλαιο 2

Εγκλιματισμός των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες Φωτός και Διοξειδίου του άνθρακα

Περίληψη

Στην ενότητα αυτή αναπτύσσεται ένα μαθηματικό μοντέλο που ποσοτικοποιεί τη λειτουργία του φωτοσυνθετικού μηχανισμού μικροοργανισμών που είναι εγκλιματισμένοι σε φως σταθερής έντασης και σε περιβάλλον σταθερής συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα. Η δόμηση του μοντέλου βασίζεται στις προσαρμογές του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των κυττάρων των μικροφυκών που αναπτύσσονται σε αυτές τις συνθήκες. Παρότι η φωτοσύνθεση περιλαμβάνει φωτεινές και σκοτεινές αντιδράσεις που αλληλοεξαρτώνται και αλληλοεπηρεάζονται, τα υπάρχοντα μαθηματικά μοντέλα δεν ποσοτικοποιούν με ενιαίο τρόπο αυτές τις αντιδράσεις. Η προσέγγιση που ακολουθείται στο παρόν μοντέλο ποσοτικοποιεί με ενιαίο τρόπο τις προαναφερθείσες αντιδράσεις και καταλήγει σε χωριστές εξισώσεις που προβλέπουν το ρυθμό παραγωγής οξυγόνου και το ρυθμό παραγωγής NADPH, το ρυθμό δέσμευσης διοξειδίου του άνθρακα, το ρυθμό παραγωγής υδρογονανθράκων και το ρυθμό απόρριψης της δεσμευμένης φωτεινής ενέργειας. Από τα αποτελέσματα του μοντέλου προκύπτει ότι οι ρυθμοί αυτοί είναι, γενικά, διαφορετικοί μεταξύ τους. Οι ρυθμοί παραγωγής των φωτοσυνθετικών προϊόντων είναι υπερβολικές συναρτήσεις της φωτεινής έντασης και της συγκέντρωσης του διοξειδίου του άνθρακα. Το μοντέλο προβλέπει ότι το φωτοσυνθετικό κύτταρο που είναι εγκλιματισμένο σε υψηλή φωτεινή ένταση ή/και υψηλή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα έχει μεγαλύτερη φωτοσυνθετική ικανότητα και μικρότερη φωτοσυνθετική απόδοση σε σχέση με ένα κύτταρο που είναι εγκλιματισμένο σε χαμηλή φωτεινή ένταση ή/και χαμηλή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα. Το

φαινόμενο αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την τομή των καμπυλών παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου και δέσμευσης διοξειδίου του άνθρακα, για κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλές και υψηλές συνθήκες. Το μοντέλο προβλέπει επίσης το ρυθμό παραγωγής υδατανθράκων σε συνάρτηση με τη φωτεινή ένταση και τη συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα.

2.1 Εισαγωγή

Η φωτοσύνθεση είναι από τους λίγους αν όχι ο μοναδικός αντιεντροπικός μηχανισμός που υπάρχει στη Γη. Είναι μια περίπλοκη φωτοχημική διαδικασία που συμβαίνει στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς και οδηγεί στη μετατροπή της φωτεινής ενέργειας σε χημική. Στις μέρες μας, η φωτοσύνθεση που συμβαίνει στους φωτοβιοαντιδραστήρες φυτοπλαγκτού μπορεί να χρησιμοποιηθεί όχι μόνο για την παραγωγή χρήσιμων οργανικών ενώσεων, όπως υδατάνθρακες και πρωτεΐνες, για την παραγωγή υδρογόνου ή/και ηλεκτρικής ενέργειας [89, 98, 113] αλλά και για την απορρόφηση ρυπογόνων ουσιών όπως είναι το CO₂ [62] και για την αποδόμηση τοξικών ουσιών όπως είναι οι φαινολικές ενώσεις [175]. Για την αξιοποίηση αυτών των δυνατοτήτων των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών απαιτείται βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων μηχανισμών που αφορούν στη λειτουργία και τη ρύθμιση της φωτοσύνθεσης. Η επαρκής μαθηματική μοντελοποίηση αυτών των διεργασιών έχει τη δυνατότητα να αξιολογήσει και να οργανώσει τα πειραματικά δεδομένα. Επιπλέον, έχει τη φιλοδοξία να κάνει ακριβείς προβλέψεις για τον ιδανικό συνδυασμό των εμπλεκόμενων παραγόντων που απαιτούνται για την ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών και για την παραγωγή των προϊόντων τους.

Η διαδικασία της φωτοσύνθεσης διακρίνεται σε δύο κατηγορίες αντιδράσεων, τις φωτεινές και τις σκοτεινές αντιδράσεις. Οι φωτεινές αντιδράσεις συμβαίνουν μόνο παρουσία φωτός, ενώ οι σκοτεινές αντιδράσεις είναι μεν εξαρτημένες από τα προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων αλλά συνεχίζουν να γίνονται και στο σκοτάδι για όσο χρονικό διάστημα υπάρχει επαρκής τροφοδότησή τους. Οι δύο αυτές αντιδράσεις μπορούν να περιγραφούν πιο εύκολα σαν ξεχωριστές διαδικασίες αλλά δεν πρέπει να μας διαφεύγει το γεγονός ότι παραμένουν αλληλοεξαρτημένες [150]. Η φωτοσύνθεση είναι άρρηκτα συνδεμένη με την παρουσία φωτός και διοξειδίου του άνθρακα. Αν και έχουν προταθεί πάρα πολλά μαθηματικά μοντέλα για τη φωτοσύνθεση, όπως [29, 43, 44, 51, 106, 184, 185, 186, 187], αυτά λαμβάνουν υπόψη τους μόνο το φως, χωρίς να ποσοτικοποιούν άμεσα τον κύκλο Calvin-Benson (σκοτεινές αντιδράσεις). Επιπλέον, κάποια από αυτά τα μοντέλα είτε χρησιμοποιούν κλασικές κινητικές ενζύμων και υποθέτουν ότι οι αντιδράσεις είναι αργές, ενζυμο-ελεγχόμενες, εξαρτώνται μόνο από το φως και, παρόλα αυτά, βγάζουν συμπεράσματα για την ανθρακοενσωμάτωση [29, 44, 51, 186], ή υποθέτουν ότι οι φωτοσυνθετικοί ρυθμοί σχετίζονται κυρίως με τη φωτεινή ένταση [184, 185, 186] υποβαθμίζοντας το ρόλο του διοξειδίου του άνθρακα. Άλλα μοντέλα, παρότι αναγνωρίζουν την εξάρτηση της φωτοσύνθεσης από το διοξειδίο του άνθρακα, είτε παρακάμπτουν τη μοντελοποίηση του [187] είτε θεωρούν ότι η ανθρακοενσωμάτωση είναι ανάλογη της φωτεινής έντασης και της διαθεσιμότητας σε άνθρακα [163].

Στη μελέτη της φωτοσύνθεσης χρησιμοποιείται συχνά η δομή της φωτοσυνθετικής μονάδας

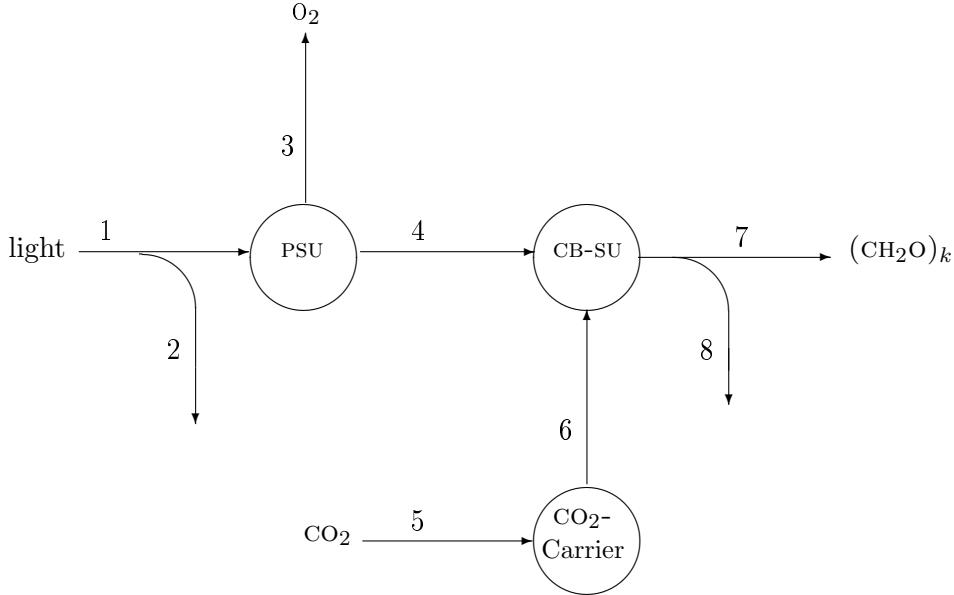
(PSU). Προϋπάρχοντα μοντέλα της φωτοσύνθεσης ψεωρούν ότι η PSU είναι η μικρότερη και απλούστερη δομή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού [150, 186], που αποτελείται από το σύμπλοκο συλλογής φωτός (LHC), τα δύο φωτοσυστήματα (PSII) και (PSI), το σύμπλοκο *cytb6f* και την ATPase. Στην παρούσα μελέτη τροποποιήθηκε ελαφρά αυτή η ψεώρηση για να δοθεί έμφαση στο μέγεθος της φωτοσυλλεκτικής κεραίας κάθε λειτουργικής PSU επειδή καθορίζει τη δέσμευση του φωτός, και στον αριθμό των αλυσίδων μεταφοράς ηλεκτρονίων του κυττάρου που ανάγουν το NADP⁺ σε NADPH προκειμένου να τροφοδοτηθεί με αυτό ο κύκλος Calvin-Benson. Συγκεκριμένα, κάθε PSU ψεωρείται ότι αποτελείται από το σύμπλοκο συλλογής φωτός (LHC), τα φωτοσυστήματα (ένα ή περισσότερα PSII, ένα ή περισσότερα PSI), το σύμπλοκο *cytb6f* και την ATPase, και χρησιμοποιεί μια αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων [129]. Εστιάζουμε κυρίως στον αριθμό των λειτουργικών αλυσίδων μεταφοράς ηλεκτρονίων και όχι στον απόλυτο αριθμό των φωτοσυστημάτων. Η αναγκαιότητα για την ελαφρά τροποποίηση του ορισμού της PSU προκύπτει από το πειραματικό γεγονός ότι ο λόγος PSII / PSI δεν είναι πάντα ίσος με ένα [150], αλλά εξαρτάται από ενδογενείς παράγοντες[150] και από τις συνθήκες ανάπτυξης του κυττάρου [70, 116, 156]. Εξάλλου, όπως έχει παρατηρηθεί σε πολλές μελέτες, η ποιότητα και η ένταση του φωτός, η υψηλή αλατότητα και ο συνδυασμός τους επηρεάζει διάφορα φωτοσυνθετικά χαρακτηριστικά όπως το λόγο PSII / PSI, την ικανότητα των δυο φωτοσυστημάτων για μεταφορά ηλεκτρονίων, την ενεργότητα της κυκλικής ροής ηλεκτρονίων και του φυσιοισμού στα κυανοβακτήρια και στα μικροφύκη [156]. Επιπλέον, σύμφωνα με την [150] «συμβαίνουν ανταλλαγές ηλεκτρομαγητικής ενέργειας μεταξύ κεραιών που εξυπηρετούν διαφορετικές PSUs, καθώς και ροή ηλεκτρονίων μεταξύ παρόμοιων ηλεκτρονιομεταφορέων διαφορετικών αλυσίδων μεταφοράς ηλεκτρονίων που συνδέουν τα δύο φωτοσυστήματα. Εξάλλου, τα ηλεκτροχημικά δυναμικά στη μεμβράνη των θυλακοειδών καθορίζονται από συνδυασμένα φωτοχημικά συμβάντα προκειμένου να γίνει κατορθωτή η ρύθμιση της φωτοσύνθεσης». Το LHC περιέχει μερικές εκατοντάδες μορίων φωτοσυνθετικών χρωστικών. Το μέγεθος της φωτοσυλλεκτικής κεραίας καθορίζεται από την ποιότητα, την ποσότητα και τη χωροδιάταξη αυτών των χρωστικών [109]. Η φωτοσυνθετική διαδικασία υποστηρίζεται ενεργειακά με ATP. Για την απλούστευση του μοντέλου η σύνθεση και η χρησιμοποίηση του ATP ποσοτικοποιείται έμμεσα. Αυτή η ψεώρηση αλλά και η εκτίμηση των απαιτούμενων ποσοτήτων ATP βασίζονται στην πειραματική μαρτυρία ότι η απαιτούμενη ποσότητα ATP εξαρτάται από ενδογενείς παράγοντες και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης του οργανισμού [116].

Η παρούσα μελέτη εστιάζει στις αποκρίσεις του φωτοσυνθετικού μηχανισμού για ένα οργανισμό που είναι εγκλιματισμένος σε σταθερή φωτεινή ένταση και σταθερή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα. Ο φωτοεγκλιματισμός είναι μια μακροχρόνια προσαρμογή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού όταν η φωτεινή ένταση στην οποία είναι εκτεθειμένος παραμένει σταθερή για μεγάλο χρονικό

διάστημα [29]. Ο φωτοεγκλιματισμός επέρχεται σε χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από 30 min (συνήθως αρκετές ώρες ή και μέρες) και περιλαμβάνει αλλαγές στο ισοζύγιο μεταξύ της σύνθεσης και της αποδόμησης πρωτεΐνων και χρωστικών [38, 105]. Ο φωτοεγκλιματισμός ελέγχεται στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής και μετάφρασης [38, 105], επομένως είναι ειδοεξαρτημένη διαδικασία [137]. Ένα κύτταρο που είναι εγκλιματισμένο σε φως χαμηλής έντασης έχει μεγάλη κεραία αλλά μικρή φωτοσυνθετική ικανότητα [38, 70, 76, 95, 105], ενώ ένα κύτταρο που είναι εγκλιματισμένο σε φως υψηλής έντασης έχει μικρή κεραία αλλά μεγάλη φωτοσυνθετική ικανότητα [49, 50, 70, 76, 94, 95, 105]. Ο εγκλιματισμός στη διαθεσιμότητα διοξειδίου του άνθρακα είναι η μακροχρόνια προσαρμογή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού στη διαθέσιμη ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα όταν η συγκέντρωσή του παραμένει σταθερή για μεγάλο χρονικό διάστημα (περίου μια μέρα) [115], και αφορά στην επίδραση της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα στην ενεργότητα της καρβονικής ανυδράσης, την παραγωγή ATP, την ενεργητική μεταφορά διοξειδίου του άνθρακα, τον χειρισμό ενδοκυτταρικών πολυαμινών, και τη συνολική παραγωγή βιομάζας [62, 102, 115, 116]. Σε κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα, η καρβονική ανυδράση απαιτεί αυξημένες ποσότητες παραγόμενου ATP και εντατικοποίηση της λειτουργίας των μηχανισμών συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα ώστε να εξασφαλίσει στα κύτταρα υψηλή διαθεσιμότητα διοξειδίου του άνθρακα [116]. Η προσέγγιση που χρησιμοποιείται για τη μοντελοποίηση βασίζεται στη συνθετική μονάδα (Synthesizing unit - SU) και στη συνθετική μονάδα-μεταφορέα (Carrier-Synthesizing unit - CSU) [90, 91], και όχι σε κλασικές κινητικές ενζύμων. Στην απλούστερη μορφή της η SU είναι ένα ένζυμο ή ένα σύμπλοκο ενζύμων που δεσμεύει ένα μόριο υποστρώματος και απελευθερώνει ένα προϊόν ή μια ομάδα προϊόντων. Ο μεταφορέας είναι μια συνθετική μονάδα με εξειδικευμένη λειτουργία: προσλαμβάνει μόρια υποστρώματος από τον εξωκυττάριο χώρο και τα μεταφέρει σε μια SU ή σε μια ομάδα από SUs που βρίσκονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Η κύρια παραδοχή για τη δομή της SU είναι ότι κάθε SU μπορεί να είναι είτε σε κατάσταση δέσμευσης, για ένα χρονικό διάστημα t_b , δεσμεύοντας τα προσερχόμενα μόρια υποστρώματος, είτε σε στάδιο παραγωγής για χρονικό διάστημα t_p , οπότε δεν μπορεί να δεχτεί μόριο υποστρώματος. Στο τέλος αυτού του κύκλου $t_c = t_b + t_p$, παράγεται ένα προϊόν ή μια ομάδα προϊόντων. Ο μέσος ρυθμός παραγωγής, \dot{J}_P , της SU είναι το αντίστροφο της αναμενόμενης τιμής του t_c , $\dot{J}_P = 1/\mathcal{E}t_c$, δηλαδή το πηλίκο του αυθοριστικού αριθμού των γεγονότων που συμβαίνουν σε μια μεγάλη περίοδο προς τη χρονική διάρκεια της περιόδου.

2.2 Το βασικό μοντέλο της φωτοσύνθεσης

Στο Σχήμα 2.1 φαίνεται η σχηματική δομή του βασικού μοντέλου της φωτοσύνθεσης.



Σχήμα 2.1: Διάγραμμα του βασικού μοντέλου της φωτοσύνθεσης. Το φως και το διοξείδιο του άνθρακα μετατρέπονται σε υδατάνθρακες. Η μετατροπή συμβαίνει στις συνθετικές μονάδες (κύκλοι) κατά τη διάρκεια των φωτεινών και των σκοτεινών αντιδράσεων. Οι αριθμοί αντιστοιχούν στις ροές: (1) ρυθμός άφιξης φωτονίων στις φωτοσυνθετικές μονάδες PSUs (\dot{J}_L), (2) ρυθμός απόρριψης φωτονίων ($\dot{J}_{L,R}$), (3) ρυθμός παραγωγής οξυγόνου (\dot{J}_{O_2}), (4) ρυθμός παραγωγής NADPH (\dot{J}_N), (5) ρυθμός άφιξης CO₂ στον CO₂-μεταφορέα ($\dot{J}_{C,a}$), (6) ρυθμός άφιξης CO₂ στη συνθετική μονάδα CB-SU ($\dot{J}_{C,p}$), (7) ρυθμός καθαρής παραγωγής υδατανθράκων (\dot{J}_{CH}), (8) ρυθμός κατανάλωσης υδατανθράκων ($(1 - \epsilon) \cdot \dot{J}_{CH,t}$).

Το μοντέλο περιλαμβάνει τα βασικά μονοπάτια τόσο των φωτεινών όσο και των σκοτεινών αντιδράσεων. Στο βασικό μοντέλο της φωτοσύνθεσης υπάρχουν τρεις τύποι συνθετικών μονάδων: η λειτουργική φωτοσυνθετική μονάδα, PSU, ο μεταφορέας διοξειδίου του άνθρακα, CO₂-Carrier, και η συνθετική μονάδα του κύκλου Calvin-Benson, CB-SU. Επιγραμματικά: η δέσμευση της φωτεινής ενέργειας συμβαίνει μέσω των PSUs που είναι μηχανές που χρησιμοποιούν τη φωτεινή ενέργεια για να παράξουν Οξυγόνο, NADPH ή/και ATP (προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων), με τον CO₂-Carrier ποσοτικοποιείται η μεταφορά διοξειδίου του άνθρακα από το περιβάλλον του κυττάρου στην CB-SU που με τη σειρά της είναι η μηχανή στην οποία πραγματοποιούνται οι σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης κατά την πρόσληψη δύο συμπληρωματικών συστατικών, του CO₂ και του NADPH, για την παραγωγή υδατανθράκων. Στην πορεία αυτής της ενότητας παρουσιάζονται αναλυτικές εξηγήσεις για το ρόλο κάθε μιας από αυτές τις συνθετικές μονάδες στη φωτοσύνθεση καθώς και οι αντίστοιχες εξισώσεις του μαθηματικού μοντέλου. Η ανάπτυξη αυτών των εξισώσεων παρατίθεται στο παράτημα.

Στον Πίνακα 2.1 παρατίθενται οι μεταβλητές και οι παράμετροι του μοντέλου.

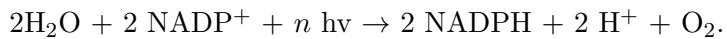
Πίνακας 2.1: Πίνακας των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων συμβόλων. Οι ρυθμοί παριστάνονται με σύμβολα που φέρουν από πάνω τελεία (διαστάσεις: time⁻¹) και τα άγκιστρα { } αναφέρονται σε ποσότητες που είναι εκφρασμένες ανά μονάδα επιφάνειας του χυτάρου. Στη στήλη των διαστάσεων, t σημαίνει χρόνος, # αριθμός, και l μήκος.

| Σύμβολο | Διαστάσεις | Σημασία |
|--|------------------------------|--|
| I, I_K | mol hv $l^{-2} t^{-1}$ | Ένταση προσπίπτουσας ακτινοβολίας, σταθερά ημικορεσμού |
| X, X_K | mol CO ₂ l^{-3} | Συγκέντρωση CO ₂ , σταθερά ημικορεσμού |
| $\dot{J}_\phi, \dot{J}_L, \dot{J}_{L,R}$ | # hv t^{-1} | Ρυθμός πρόσπτωσης φωτονίων στο κύτταρο, - άφιξης φωτονίων στις PSUs, -απορριπτόμενων φωτονίων |
| $\dot{J}_{L,b}, \dot{J}_{L,m}$ | mol t^{-1} | Ρυθμός δέσμευσης από την PSU, ρυθμός παραγωγής - |
| \dot{J}_{O_2}, \dot{J}_N | mol t^{-1} | Ρυθμός παραγωγής οξυγόνου, -NADPH |
| $\{\dot{J}_{O_2}^m\}, \{\dot{J}_N^m\}$ | mol $l^{-2} t^{-1}$ | Ειδικός, ως προς την επιφάνεια του χυτάρου, μέγιστος ρυθμός παραγωγής οξυγόνου, -NADPH |
| $\dot{J}_{CH}, \dot{J}_{CH,t}$ | mol t^{-1} | Ρυθμός καθαρής παραγωγής υδατανθράκων, ρυθμός μικτής - |
| $\{\dot{J}_{CH,m}\}$ | mol $l^{-2} t^{-1}$ | Ειδικός, ως προς την επιφάνεια του χυτάρου, μέσος ρυθμός παραγωγής μονομερών του υδατάνθρακα |
| $\{\dot{J}_{C,m}\}$ | mol $l^{-2} t^{-1}$ | Ειδικός, ως προς την επιφάνεια του χυτάρου, μέσος ρυθμός παραγωγής CO ₂ από τον CO ₂ -μεταφορέα |
| $\dot{J}_{C,a}$ | mol t^{-1} | Ρυθμός άφιξης CO ₂ στο CO ₂ -μεταφορέα |
| $\dot{J}_{C,p}$ | mol t^{-1} | Ρυθμός άφιξης CO ₂ στην CB-SU |
| $\dot{J}_{C,b}, \dot{J}_{C,m}$ | mol t^{-1} | Ρυθμός δέσμευσης CO ₂ από τον CO ₂ -μεταφορέα, ρυθμός παραγωγής - Εμβαδόν της χυταρικής επιφάνειας |
| A_c | l^2 | Αριθμός Avogadro |
| N_A | # mol ⁻¹ | Λειτουργικές PSUs ανά κύτταρο |
| S | mol PSU | Ειδική, ως προς την επιφάνεια, πυκνότητα των PSUs ($\{S\} \equiv \frac{S}{A_c}$) |
| $\{S\}$ | mol PSU l^{-2} | Ενεργός διατομή απορρόφησης φωτονίων από το κύτταρο |
| σ | - | Αριθμός φωτονίων που απαιτούνται για τη διέγερση μιας PSU |
| n | - | Ειδική, διατομή απορρόφησης CO ₂ από το κύτταρο |
| ζ | $l t^{-1}$ | Αριθμός μονομερών του υδατάνθρακα |
| K | - | Πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων |
| ρ_L | - | Πιθανότητα δέσμευσης CO ₂ |
| ρ_{IC} | - | Σχετική ικανότητα του χυτάρου στο χειρισμό CO ₂ έναντι της ικανότητάς του στο χειρισμό φωτονίων |
| λ_1 | mol / mol | Σχετική ικανότητα του χυτάρου για ανθρακοενσωμάτωση έναντι της ικανότητάς του στο χειρισμό CO ₂ |
| λ_2 | mol / mol | Συντελεστής απόδοσης της σύνθεσης υδατάνθρακων |
| ϵ | - | |

Φωτεινές αντιδράσεις. Θεωρούμε ότι η δέσμευση της φωτεινής ενέργειας συμβαίνει μόνο στις λειτουργικές φωτοσυνθετικές μονάδες (PSUs). Ως PSU θεωρούμε την πιο μικρή και απλή δομική λειτουργική μονάδα του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Η PSU αποτελείται από το σύμπλοκο συλλογής φωτός (LHC), τα φωτοσυστήματα (ένα ή περισσότερα PSII, ένα ή περισσότερα PSI), το σύμπλοκο *cytbf*, και την ATP-συνθάση. Κάθε PSU χρησιμοποιεί μία αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων. Μια PSU μπορεί να βρίσκεται είτε σε στάδιο δέσμευσης οπότε δεσμεύει τα προσπίπτοντα φωτόνια με πιθανότητα ρ_L είτε σε στάδιο παραγωγής οπότε δεν δεσμεύει φωτόνια. Η τιμή της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων ρ_L εκφράζει το λειτουργικό μέγεθος της φωτοσυλλεκτικής κεραίας δεδομένου ότι ο ρυθμός χρησιμοποίησης του φωτός από ένα φωτοσύστημα είναι ευθέως ανάλογος με το μέγεθος της φωτοσυλλεκτικής κεραίας [109]. Τα φωτόνια πέφτουν στο κύτταρο με ρυθμό $\dot{J}_\phi = N_A A_c I$, όπου N_A είναι ο αριθμός Avogadro, A_c είναι το εμβαδόν της επιφάνειας του κυττάρου, και I είναι η ένταση της προσπίπτουσας φωτεινής ακτινοβολίας. Ένα μέρος, 1-σ, αυτών των φωτονίων χάνονται αποτυγχάνοντας να χτυπήσουν σε PSUs, ενώ τα υπόλοιπα προσπίπτουν σε αυτές με ρυθμό \dot{J}_L ίσο με:

$$\dot{J}_L = \sigma N_A A_c I. \quad (2.1)$$

Το σ είναι η ενεργός διατομή απορρόφησης των φωτονίων από το κύτταρο και εξαρτάται από την ποιότητα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και από το είδος του οργανισμού. Τα προσπίπτοντα φωτόνια διεγείρουν τις φωτοσυνθετικές χρωστικές της φωτοσυλλεκτικής κεραίας και οδηγούνται στα ενεργά κέντρα των φωτοσυστημάτων ενεργοποιώντας την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων [150]. Κατά τη διάρκεια αυτής της φωτοχημικής αντίδρασης κάθε PSU παράγει NADPH, ATP και οξυγόνο. Θεωρούμε ότι κάθε PSU λειτουργεί σαν συνθετική μονάδα ενός υποστρώματος - πολλών αντιγράφων [90, 91] που δεσμεύει φωτόνια και παράγει NADPH και οξυγόνο σύμφωνα με τη χημική εξίσωση [2]



Θεωρούμε ότι τα φωτόνια που προσπίπτουν σε κάθε PSU ακολουθούν κατανομή Poisson και η PSU πρέπει να δεσμεύσει n φωτόνια προκειμένου να περάσει στη διαδικασία παραγωγής. Ένα κύτταρο μικροφύκους περιέχει μεγάλο αριθμό, S , PSUs που λειτουργούν ανεξάρτητα. Από την εξίσωση (2.14) προκύπτει ότι ο ρυθμός καθαρής παραγωγής οξυγόνου από το κύτταρο, \dot{J}_{O_2} , είναι ίσος με (δες Παράρτημα για λεπτομέρειες)

$$\dot{J}_{O_2} = \{J_{O_2}^m\} \frac{I}{I + I_K} A_c, \quad (2.2)$$

όπου $\{J_{O_2}^m\} = \{S\} \dot{J}_{L,m}$ είναι ο μέγιστος, ανά μονάδα επιφάνειας, ειδικός ρυθμός καθαρής παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου, $I_K = n\{S\} \dot{J}_{L,m} \rho_L^{-1} \sigma^{-1}$ είναι η σταθερά ημικορεσμού, $\{S\} = \frac{S}{A_c}$

είναι η ειδική, ανά μονάδα επιφάνειας, πυκνότητα των PSUs και $\dot{J}_{L,m}$ είναι ο μέσος ρυθμός παραγωγής μιας PSU.

Σύμφωνα με την παραπάνω χημική εξίσωση και την εξίσωση (2.2) ο ρυθμός παραγωγής NADPH από το κύτταρο, \dot{J}_N , είναι ίσος με

$$\dot{J}_N = \{\dot{J}_N^m\} \frac{I}{I + I_K} A_c, \quad (2.3)$$

όπου $\{\dot{J}_N^m\} = 2\{S\}\dot{J}_{L,m}$ είναι ο μέγιστος ειδικός, ανά μονάδα επιφάνειας, ρυθμός παραγωγής NADPH.

Η δέσμευση φωτονίων επιτελείται από τις φωτοσυνθετικές μονάδες κατά τη διάρκεια της μετάβασής τους από τη θεμελιώδη στη διεγερμένη κατάσταση. Αν όλες οι χρωστικές είναι σε διεγερμένη κατάσταση, τα προσπίπτοντα φωτόνια αποβάλλονται σαν φθορισμός ή/και θερμότητα [150]. Καθώς τα φωτόνια που πέφτουν σε μια PSU ακολουθούν κατανομή Poisson, τα απορριπτόμενα φωτόνια ακολουθούν επίσης κατανομή Poisson. Το μεγάλο πλήθος S των PSUs παράγει μια ροή Poisson απορριπτόμενων φωτονίων με ρυθμό που ισούται με το ρυθμό των φωτονίων που προσπίπτουν στις φωτοσυνθετικές χρωστικές του κυττάρου, \dot{J}_L , μείον το ρυθμό των φωτονίων που δεσμεύονται από το κύτταρο, $n\dot{J}_{O_2}$ [90, 91]. Χρησιμοποιώντας τις εξισώσεις (2.1) και (2.2) συμπεραίνουμε ότι ο ρυθμός απορριπτόμενων φωτονίων από το κύτταρο $\dot{J}_{L,R}$, δηλαδή ο φθορισμός, ισούται με:

$$\dot{J}_{L,R} = \sigma N_A A_c \left(1 - \frac{\rho_L I_K}{I + I_K}\right) I \quad (2.4)$$

Σκοτεινές αντιδράσεις. Η φωτοσυνθετική παραγωγή υδατανθράκων συμβαίνει κατά τη διάρκεια μιας σειράς σύνθετων ενζυμικά καταλυόμενων αντιδράσεων, ο επονομαζόμενος κύκλος Calvin-Benson. Οι αντιδράσεις αυτές είναι γνωστές σαν σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης επειδή λαμβάνουν χώρα ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη φωτός, χρησιμοποιώντας NADPH και ATP που είναι προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων. Για τους σκοπούς της μοντελοποίησης θεωρούμε ότι το κύτταρο μικροφύκους είναι μία SU (που την ονομάζουμε Calvin-Benson Synthesizing Unit, (CB-SU), που δεσμεύει, με παράλληλη διαδικασία, μόρια NADPH από τις S ανεξάρτητες PSUs του κυττάρου και μόρια CO₂ από ένα μεταφορέα διοξειδίου του άνθρακα (CO₂-carrier) για να παράξουν υδατάνθρακες. Η διαδικασία αυτή υποστηρίζεται ενεργειακά από μόρια ATP [150].

Ο CO₂-carrier ποσοτικοποιεί τη μεταφορά μορίων CO₂ από το περιβάλλον, μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, στην CB-SU. Η μεταφορά CO₂ συμβαίνει είτε με διάχυση, αν η συγκέντρωση CO₂ είναι υψηλή, ή με τη βοήθεια ενζύμων (ενεργητική μεταφορά), αν η συγκέντρωση CO₂ είναι χαμηλή. Για συγκεκριμένη συγκέντρωση CO₂ X , ο ρυθμός άφιξης CO₂ στον CO₂-carrier, $\dot{J}_{C,a}$, είναι ανάλογος της συγκέντρωσης CO₂ [91], και του εμβαδού της επιφάνειας του κυττάρου

$$\dot{J}_{C,a} = \dot{\zeta} A_c X, \quad (2.5)$$

όπου $\dot{\zeta}$ είναι η ενεργός διατομή απορρόφησης μορίων CO₂ από το κύτταρο και εξαρτάται από περιβαλλοντικούς παράγοντες και τη φυσιολογία του κυττάρου. Από την εξίσωση (2.16) προκύπτει ότι ο CO₂-carrier προμηθεύει με μόρια CO₂ την CB-SU με ρυθμό (δες το Παράρτημα για λεπτομέρειες)

$$\dot{J}_{C,p} = \{\dot{J}_{C,m}\} \frac{X}{X + X_K} A_c, \quad (2.6)$$

όπου $\{\dot{J}_{C,m}\}$ είναι ο ειδικός, ως προς την επιφάνεια, μέσος ρυθμός παραγωγής CO₂ από το CO₂-carrier που είναι ειδοεξαρτημένος και δείχνει την ικανότητα του κυττάρου για το χειρισμό του CO₂ και $X_K = \{\dot{J}_{C,m}\} \rho_{IC}^{-1} \dot{\zeta}^{-1}$ είναι η σταθερά ημικορεσμού. Η CB-SU δεσμεύει ένα μόριο CO₂ και τέσσερα μόρια NADPH και παράγει ένα μόριο μονομερούς μορίου υδατάνθρακα, CH₂O. Κάθε μονομερές του υδατάνθρακα συνδέεται με το προϊόν του προηγούμενου κύκλου της CB-SU σύμφωνα με τη χημική εξίσωση



όπου $k = 1, 2, \dots, K$.

Ο κύκλος επαναλαμβάνεται σειριακά K φορές για την παραγωγή ενός μορίου υδατάνθρακα. Αντικαθιστώντας τις εξισώσεις (2.3) και (2.6) στην εξίσωση (2.18) προκύπτει ότι ο συνολικός ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων από το κύτταρο είναι (δες το Παράρτημα για λεπτομέρειες)

$$\dot{J}_{CH,t} = \frac{\{\dot{J}_{CH,m}\}}{K} A_c \left[1 + \lambda_2 \left(4\lambda_1 \frac{I+I_K}{I} + \frac{X+X_K}{X} \left(1 + \lambda_1 \frac{\frac{X}{X+X_K}}{\frac{I}{I+I_K}} \right)^{-4} \right) \right]^{-1}, \quad (2.7)$$

όπου $\lambda_1 = \frac{\{\dot{J}_{C,m}\}}{\{\dot{J}_N^m\}}$ είναι η σχετική ικανότητα του κυττάρου στο χειρισμό μορίων CO₂ έναντι του χειρισμού φωτονίων, $\lambda_2 = \frac{\{\dot{J}_{CH,m}\}}{\{\dot{J}_{C,m}\}}$ είναι η σχετική ικανότητα ανθρακοενσωμάτωσης έναντι του χειρισμού μορίων CO₂, και $\{\dot{J}_{CH,m}\}$ είναι ο ειδικός ρυθμός ανθρακοενσωμάτωσης, ανά μονάδα επιφάνειας, ο οποίος είναι σταθερός γιατί εκφράζει την ικανότητα του κυττάρου για ανθρακοενσωμάτωση. Θεωρούμε ότι το μέσο χρονικό διάστημα για την ανθρακοδέσμευση $\dot{J}_{CH,m}^{-1}$, είναι το ίδιο για κάθε κύκλο της CB-SU λόγω του ότι είναι ίδια κάθε φορά η βιοχημική διεργασία.

Κόστος σύνθεσης των υδατανθράκων. Οι φωτεινές και, κυρίως, οι σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης είναι ενζυμικά καταλυόμενες και αυτουποστηριζόμενες ενεργειακά με ATP. Η σύνθεση των απαίτημενων ενζύμων, όπως η Rubisco, που εμπλέκονται σε αυτές τις αντιδράσεις υποστηρίζεται, επίσης, ενεργειακά με ATP. Αυτή η ενεργειακή απαίτηση είναι το κόστος για την σύνθεση των υδατανθράκων και μοντελοποιείται έμμεσα θεωρώντας ότι είναι ανάλογο της ποσότητας των παραγόμενων υδατανθράκων. Επομένως, ένα μέρος $(1 - \epsilon)$ της συνολικής ποσότητας

των υδατανθράκων, $\dot{J}_{CH,t}$, είτε δεν συντίθεται ποτέ είτε καταναλώνεται μετά τη σύνθεσή του προκειμένου να παραχθεί η ποσότητα ATP που απαιτείται στην όλη διαδικασία. Για ένα κύτταρο που αναπτύσσεται σε σταθερές συνθήκες, το ενεργειακό κόστος για τη σύνθεση των υδατανθράκων είναι σταθερό και εξαρτάται από το είδος του οργανισμού. Επομένως, ο καθαρός ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων ισούται με

$$\dot{J}_{CH} = \epsilon \frac{\{j_{CH,m}\}}{K} A_c \left[1 + \lambda_2 \left(4\lambda_1 \frac{I+I_K}{I} + \frac{X+X_K}{X} \left(1 + \lambda_1 \frac{X}{I+I_K} \right)^{-4} \right) \right]^{-1}. \quad (2.8)$$

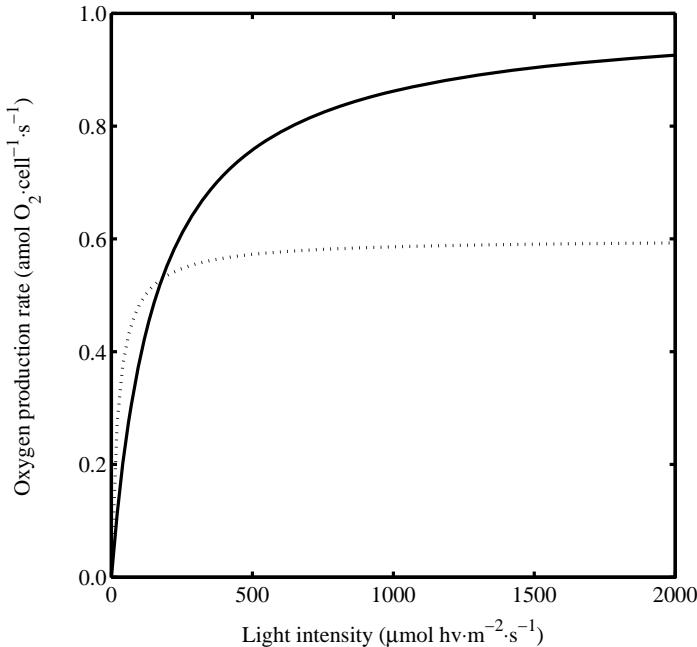
2.3 Ανάλυση και έλεγχος του μοντέλου

Οι εξισώσεις των ρυθμών παραγωγής οξυγόνου (εξ. 2.2) και NADPH (εξ. 2.3) έχουν παρόμοιες ιδιότητες, επομένως όταν σχολιάσουμε μόνο την πρώτη από αυτές. Απουσία φωτοαναστολής, ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου από το κύτταρο είναι υπερβολική συνάρτηση της φωτεινής έντασης, δηλαδή η καμπύλη είναι σχεδόν γραμμική για χαμηλές εντάσεις φωτός και καταλήγει ασυμπτωτικά σε μια μέγιστη τιμή σε υψηλές φωτεινές εντάσεις (η μορφή της καμπύλης φαίνεται στο Σχήμα 2.2), είναι επίσης ανάλογος με το εμβαδόν της επιφάνειας του κυττάρου, A_c . Το ασυμπτωτικό μέγιστο του ρυθμού παραγωγής οξυγόνου για ένα κύτταρο που έχει επιφάνεια A_c είναι

$$\lim_{I \rightarrow \infty} \dot{J}_{O_2} = \{\dot{J}_{O_2}^m\} A_c = \{S\} \dot{J}_{L,m} A_c. \quad (2.9)$$

Για πολύ χαμηλές εντάσεις φωτισμού ($I \rightarrow 0$) η κλίση της εξίσωσης (2.2) είναι

$$\lim_{I \rightarrow 0} \frac{d\dot{J}_{O_2}}{dI} = \frac{\{\dot{J}_{O_2}^m\}}{I_K} A_c = \frac{\sigma}{n} \rho_L A_c. \quad (2.10)$$



Σχήμα 2.2: PI-καμπύλες σύμφωνα με την εξίσωση (2.2). Η συνεχής καμπύλη αντιστοιχεί σε κύτταρα που είναι φωτοεγκλιματισμένα σε υψηλή φωτεινή ένταση (HL) και η διακεκομένη καμπύλη σε κύτταρα φωτοεγκλιματισμένα σε χαμηλή φωτεινή ένταση (LL). Τιμές παραμέτρων: $\{\dot{J}_{O_2}^m\} = 0.1 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $I_K = 160 \mu\text{mol h}\nu \cdot \text{m}^{-2}$, s^{-1} για την HL-καμπύλη και $\{\dot{J}_{O_2}^m\} = 0.06 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $I_K = 24 \mu\text{mol h}\nu \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ για την LL-καμπύλη. Τόσο για τα HL όσο και για LL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα θεωρούμε μια μέση κυτταρική επιφάνεια $A_c = 10 \mu\text{m}^2$.

Φωτοεγκλιματισμός και CO_2 -εγκλιματισμός. Ένα κύτταρο που αναπτύσσεται για μεγάλο χρονικό διάστημα σε σταθερή φωτεινή ένταση και σταθερή συγκέντρωση CO_2 εγκλιματίζει το

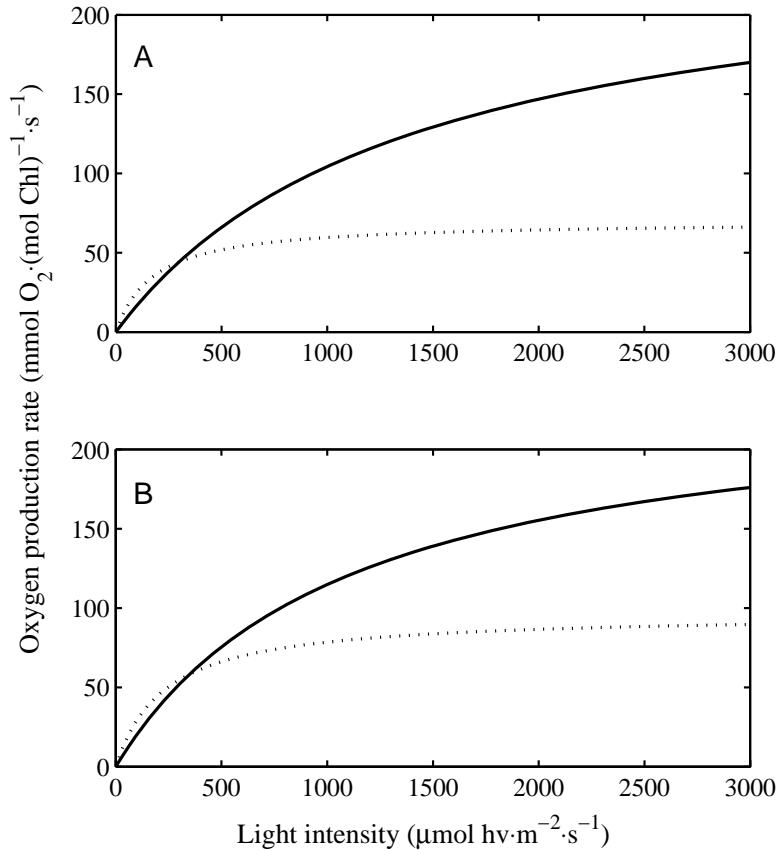
φωτοσυνθετικό του μηχανισμό σε αυτές τις συνθήκες [5]. Τα φαινόμενα αυτά είναι γνωστά σαν φωτοεγκλιματισμός και CO₂-εγκλιματισμός, αντίστοιχα. Όταν το κύτταρο αναπτύσσεται σε σταθερό περιβάλλον οι ειδικοί, ως προς την επιφάνεια, μέγιστοι φωτοσυνθετικοί ρυθμοί παραγωγής, $\{j_{O_2}^m\}$ και $\{j_N^m\}$, είναι επίσης σταθεροί. Οι ποσότητες αυτές είναι ανεξάρτητες από το μέγεθος του κυττάρου επειδή είναι εκφρασμένες ανά μονάδα κυτταρικής επιφάνειας και για σταθερές συνθήκες ανάπτυξης (δηλ., σταθερό φως, θερμοκρασία και αλατότητα) εξαρτώνται μόνο από το είδος του οργανισμού. Οι ποσότητες αυτές εκφράζονται ανά μονάδα επιφάνειας και όχι ανά μονάδα βιοόγκου επειδή η δέσμευση φωτός σχετίζεται με την επιφάνεια της μεμβράνης των θυλακοειδών. Θεωρούμε ότι ο φωτοεγκλιματισμός επηρεάζει πρωταρχικά την πιθανότητα δέσμευσης των φωτονίων ρ_L και την πυκνότητα $\{S\}$ των PSUS, ενώ ο CO₂-εγκλιματισμός επηρεάζει πρωταρχικά την πιθανότητα δέσμευσης του CO₂, ρ_{IC} , και το σχετικό κόστος για τη σύνθεση των υδατανθράκων, $(1 - \epsilon)$.

Ένα κύτταρο που είναι φωτοεγκλιματισμένο σε φως χαμηλής έντασης (LL) έχει μεγαλύτερη φωτοσυλλεκτική κεραία σε σχέση με ένα κύτταρο που είναι φωτοεγκλιματισμένο σε φως υψηλής έντασης (HL) [38, 70, 76, 95, 105]. Θεωρούμε ότι η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων ρ_L είναι ανάλογη του μεγέθους της φωτοσυλλεκτικής κεραίας. Για το λόγο αυτό η τιμή της παραμέτρου ρ_L είναι μεγάλη για LL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα και μικρή για HL. Επιπλέον, υπάρχει πειραματική μαρτυρία [7] ότι ο αριθμός των αλυσίδων μεταφοράς ηλεκτρονίων είναι μικρότερος σε LL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα σε σχέση με τα HL. Για το λόγο αυτό θεωρούμε ότι ο αριθμός των PSUS και κατ' επέκταση η πυκνότητά τους $\{S\}$ σε LL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα είναι μικρότερη σε σχέση με τα HL.

Από τις εξισώσεις (2.9) και (2.10) προκύπτει ότι η πυκνότητα των PSUS, $\{S\}$, επηρεάζει το ασυμπτωτικό μέγιστο του ρυθμού παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου και η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων ρ_L επηρεάζει την κλίση του ρυθμού παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου σε πολύ χαμηλό φωτισμό. Για τους παραπάνω λόγους, ο μέγιστος ρυθμός παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου είναι χαμηλός για LL και υψηλός για HL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα του ίδιου μεγέθους, ενώ η κλίση της καμπύλης της φωτοσύνθεσης σε πολύ χαμηλό φωτισμό είναι πιο απότομη για LL παρά για HL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα του ίδιου μεγέθους. Αυτές οι ιδιότητες της εξίσωσης (2.2) οδηγούν σε τομή των καμπυλών της φωτοσύνθεσης για LL και HL κύτταρα όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.2. Επιπλέον, η τιμή της έντασης ημικορεσμού, $I_K = n\{S\}\dot{J}_{L,m}\rho_L^{-1}\sigma^{-1}$, είναι μικρή για LL και μεγάλη για HL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα του ίδιου μεγέθους, καθώς είναι ανάλογη του $\{S\}$ και αντιστρόφως ανάλογη της ρ_L .

Οι Jin et al. [76], σε ένα πείραμα που σχεδίασαν για να ελέγξουν την εμπλοκή της ζεαξανθίνης και της πρωτεΐνης Cbr στην επιδιόρθωση του φωτοσυστήματος II του μικροφύκους *Dunaliella salina* μετά από φωτοαναστολή, μέτρησαν την φωτοσυνθετική απόδοση και παραγωγικότητα σε

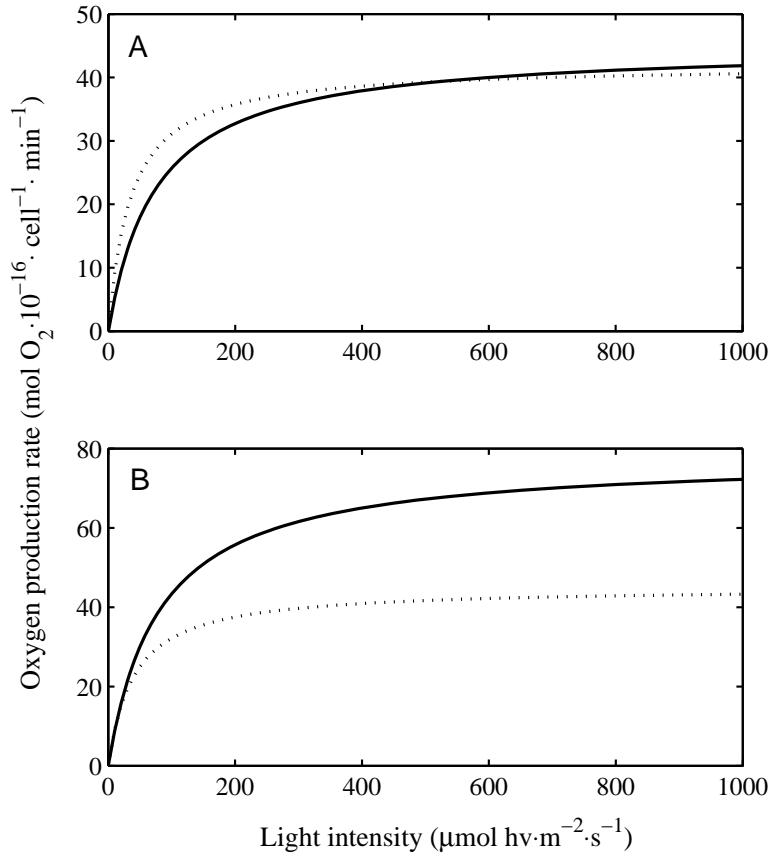
άγριο τύπο καθώς και σε μεταλλαγμένα στελέχη φωτοευαίσθητα και ανεπαρκή σε χλωροφύλλη. Οι Jin et al. βρήκαν ότι τα άγριου τύπου κύτταρα και τα μεταλλαγμένα στελέχη τους που αναπτύχθηκαν σε χαμηλό φωτισμό (LL) είχαν παρόμοιες φωτοσυνθετικές αποδόσεις, 0.40 και 0.42, αντίστοιχα, μετρημένες σαν κλίσεις του αρχικού τμήματος των καμπυλών φωτοσύνθεσης - φωτεινής έντασης (PI-καμπύλες).



Σχήμα 2.3: PI-καμπύλες σύμφωνα με την εξίσωση (2.2) και τιμές παραμέτρων από [76] (δες το κείμενο για λεπτομέρειες). Οι συνεχείς καμπύλες αντιστοιχούν σε κύτταρα φωτοεγκλιματισμένα σε υψηλό φωτισμό (HL) και οι διακεκομμένες σε κύτταρα φωτοεγκλιματισμένα σε χαμηλό φωτισμό (LL). (A) Τιμές παραμέτρων για τον άγριο τύπο: $P_{max} = 248 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $\phi = 0.18$ για την HL-καμπύλη και $P_{max} = 70 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $\phi = 0.4$ για την LL-καμπύλη. (B) Τιμές παραμέτρων για τα μεταλαγμένα στελέχη: $P_{max} = 240 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $\phi = 0.22$ για την HL-καμπύλη και $P_{max} = 96.5 \text{ mmol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $\phi = 0.42$ για την LL-καμπύλη.

Πάντως, όταν τα δύο στελέχη αναπτύσσονταν σε υψηλό φωτισμό (HL) οι φωτοσυνθετικές τους αποδόσεις μειώθηκαν σε 0.18 και 0.22, αντίστοιχα. Η φωτοσυνθετική ικανότητα, δηλαδή ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου σε φωτεινή ένταση κορεσμού, ήταν $96.5 \pm 1.2 \text{ mmol O}_2 \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ για τα LL-αναπτυσσόμενα μεταλλαγμένα στελέχη και $70.0 \pm 5.2 \text{ mmol O}_2 \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ για τα LL-αναπτυσσόμενα κύτταρα άγριου τύπου. Για τα HL-αναπτυσσόμενα κύτταρα οι φωτοσυνθετικές ικανότητες ήταν μεγαλύτερες από $180 \text{ mmol O}_2 \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ καθώς η καμπύλη της φωτο-

σύνθεσης δεν είχε φτάσει σε κορεσμό στα $3000 \text{ } \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Να σημειώσουμε ότι τα κύτταρα ήταν φωτοεγκλιματισμένα σε φωτεινές εντάσεις $2000 \text{ } \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (HL) και $100 \text{ } \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (LL). Για να ελέγξουμε το μοντέλο με αυτές τις πειραματικές παρατηρήσεις εκφράσαμε την εξίσωση (2.2) συναρτήσει της χλωροφύλλης (Chl). Αν λ είναι ο αριθμός των mol Chl ανά κύτταρο, τότε οι όροι $P \equiv \frac{\dot{J}_{O_2}}{\lambda}$ και $P_{max} \equiv \frac{\{J_{O_2}^m\} \cdot A_c}{\lambda}$ είναι ο φωτοσυνθετικός ρυθμός παραγωγής οξυγόνου και η φωτοσυνθετική ικανότητα, αντίστοιχα, εκφρασμένοι σε $\text{mmol O}_2 \cdot (\text{mol Chl})^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ και $\phi \equiv \frac{P_{max}}{I_K}$ είναι η φωτοσυνθετική απόδοση. Επομένως, η εξίσωση (2.2) μετασχηματίζεται στη μορφή $P = P_{max} \frac{I}{I+P_{max}/\phi}$. Στο Σχήμα 2.3 φαίνονται οι PI-καμπύλες που προκύπτουν με τη χρήση των παραμετρικών τιμών από τους Jin et al. [76].



Σχήμα 2.4: PI-καμπύλες για HL και LL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα με παρόμοιους μέγιστους φωτοσυνθετικούς ρυθμούς (A) και με παρόμοιες κλίσεις (B). Οι συνεχόμενες καμπύλες αντιστοιχούν σε κύτταρα φωτοεγκλιματισμένα σε υψηλό φωτισμό (HL) και οι διακεκομμένες σε κύτταρα φωτοεγκλιματισμένα σε χαμηλό φωτισμό (LL). Οι τιμές των παραμέτρων προέκυψαν από πειραματικά δεδομένα των [50] και [49] (δες Πίνακα 2.2 και λεπτομέρειες στο κείμενο). Παραμετρικές τιμές: (A) $\{J_{O_2}^m\} = 45 \cdot 10^{-6} \text{ mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$, $I_K = 75 \text{ } \mu\text{mol hν} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ για την HL-καμπύλη και $\{J_{O_2}^m\} = 42 \cdot 10^{-6} \text{ mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$, $I_K = 35 \text{ } \mu\text{mol hν} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ για την LL-καμπύλη, (B) $\{J_{O_2}^m\} = 78 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$, $I_K = 80 \text{ } \mu\text{mol hν} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ για την HL-καμπύλη και $\{J_{O_2}^m\} = 46 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$, $I_K = 40 \text{ } \mu\text{mol hν} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ για την LL-καμπύλη. Για όλα τα κύτταρα θεωρήσαμε μια μέση κυτταρική επιφάνεια, $A_c = 1.0 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2$.

Ας στρέψουμε το ενδιαφέρον μας στην καμπυλότητα των PI-καμπυλών. Για κύτταρα που είναι

φωτοεγκλιματισμένα σε διαφορετικές φωτεινές εντάσεις και παρουσιάζουν παρόμοιους μέγιστους φωτοσυνθετικούς ρυθμούς, είναι αρκετή η αλλαγή της τιμής δύο μόνο παραμέτρων του μοντέλου, της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων ρ_L και της πυκνότητας των PSUs, $\{S\}$, προκειμένου να γίνει η προσαρμογή του μοντέλου (Εξίσωση 2.2).

Στο Σχήμα 2.4A παρουσιάζονται οι PI-καμπύλες δύο τέτοιων κυττάρων όπως αυτές προκύπτουν από το μοντέλο. Σύμφωνα με τις παραδοχές του μοντέλου τα κύτταρα αυτά έχουν παρόμοια πυκνότητα PSUs $\{S\}$ και διαφορετική πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων ρ_L . Να τονίσουμε ότι οι τιμές αυτών των παραμέτρων εξαρτώνται από την κατάσταση φωτοεγκλιματισμού του κυττάρου και από το είδος του οργανισμού. Αν τώρα στρέψουμε το ενδιαφέρον μας σε PI-καμπύλες που έχουν σημαντικά διαφορετικούς μέγιστους φωτοσυνθετικούς ρυθμούς αλλά παρόμοια κλίση κοντά σε πολύ μικρές φωτεινές εντάσεις, αρκεί πάλι να αλλάξουμε τις τιμές των ίδιων δύο παραμέτρων για να γίνει προσαρμογή του μοντέλου. Σύμφωνα με το μοντέλο, τα κύτταρα αυτά έχουν παρόμοια πυκνότητα PSUs $\{S\}$ αλλά διαφορετικές πιθανότητες δέσμευσης φωτονίων ρ_L (Σχήμα 2.4B). Αυτοί οι δύο τύποι απόκρισης έχουν παρατηρηθεί πειραματικά [49, 50] σε κύτταρα του χλωρόφυτου *Dunaliella tertiolecta* και του διάτομου *Skeletonema costatum* (τα αντίστοιχα πειραματικά δεδομένα παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2).

Η σχέση του ρυθμού καθαρής παραγωγής υδατανθράκων με το διαθέσιμο φως και διοξείδιο του άνθρακα δίνεται από την εξίσωση (2.8). Η εξίσωση αυτή παρέχει την ταυτόχρονη εξάρτηση του ρυθμού παραγωγής υδατανθράκων από τη φωτεινή ένταση και από τη συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα απουσία φωτοαναστολής και CO₂-αναστολής. Για να μειώσουμε τον αριθμό των παραμέτρων, μετασχηματίζουμε την εξίσωση (2.8) έτσι ώστε να είναι αδιάστατη εισάγοντας τις σχετικές μεταβλητές j_{CH}^* = $\frac{j_{CH}}{\{j_{CH,m}\}A_c/K}$, $I^* = \frac{I}{I_K}$, και $X^* = \frac{X}{X_K}$. Η εξίσωση (2.8) παίρνει τότε τη μορφή

$$j_{CH}^* = \epsilon \left[1 + \lambda_2 \left(4\lambda_1 \frac{I^* + 1}{I^*} + \frac{X^* + 1}{X^*} \left(1 + \lambda_1 \frac{X^*}{\frac{I^*}{I^* + 1}} \right)^{-4} \right) \right]^{-1}. \quad (2.11)$$

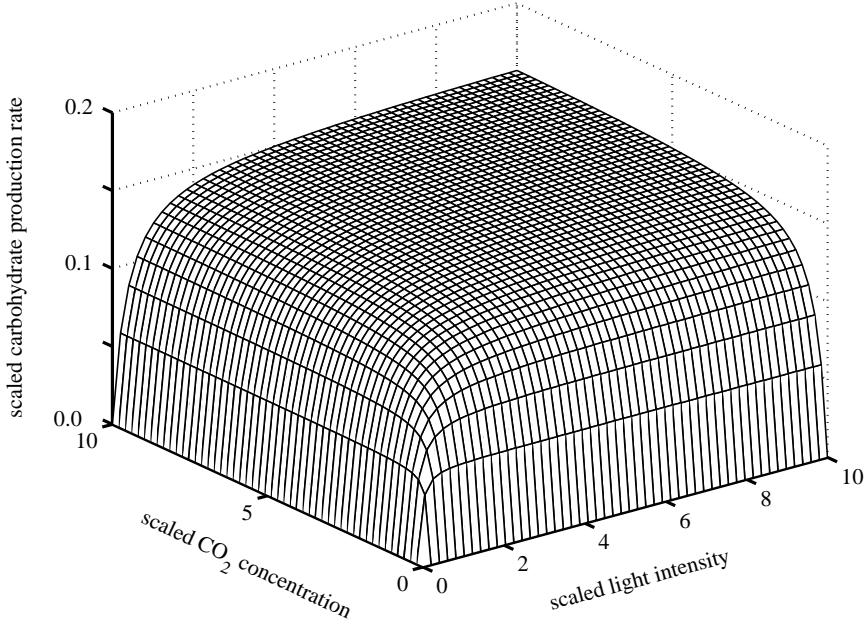
Ο σχετικός ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων, απουσία φωτοαναστολής και CO₂-αναστολής είναι υπερβολικού τύπου τόσο με την αύξηση της φωτεινής έντασης όσο και με την αύξηση της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα (Σχήμα 2.5). Ο σχετικός ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων είναι σχεδόν γραμμικός σε χαμηλή φωτεινή ένταση και σε χαμηλή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα, ενώ φτάνει σε κορεσμό σε πολύ υψηλές τιμές κάθε μιας από αυτές τις μεταβλητές.

Για την παραγωγή υδατανθράκων είναι απαραίτητα τόσο το NADPH όσο και το διοξείδιο του άνθρακα. Το μέσο χρονικό διάστημα \mathcal{E}_{t_b} που απαιτείται για τη δέσμευση των δύο παραπάνω συμπληρωματικών συστατικών, εξίσωση (2.17) στο παράρτημα, δείχνει τον τρόπο με τον οποίο αυτά τα

Πίνακας 2.2: Απόχριση της φωτοσυνθετικής ικανότητας, P_{max} , στην ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας που αναπτύσσεται το κύτταρο, I_g , για κύτταρα *Dunaliella tertiolecta* και *Skeletonema costatum*. Τα δεδομένα έχουν ληφθεί από [49]¹ και [50]².

| | I_g ($\mu\text{mol } h\nu \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) | P_{max} ($\text{mol O}_2 \cdot 10^{-16} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) |
|------------------------------------|---|--|
| <i>D. tertiolecta</i> ¹ | 45 | 42 |
| | 600 | 45 |
| <i>S. costatum</i> ¹ | 30 | 21 |
| | 200 | 21 |
| | 600 | 24 |
| <hr/> | | |
| <i>D. tertiolecta</i> ² | 2 | 31 |
| | 8 | 38 |
| | 20 | 46 |
| | 60 | 65 |
| | 120 | 71 |
| | 200 | 74 |
| | 400 | 78 |
| <i>S. costatum</i> ² | 0.7 | 3.1 |
| | 2.6 | 3.9 |
| | 9 | 7.4 |
| | 20 | 10.9 |
| | 39 | 15.1 |
| | 65 | 15.9 |
| | 130 | 15.8 |
| | <hr/> | |

συστατικά περιορίζουν τη σύνθεση των υδατανθράκων. Όταν η ροή NADPH, \dot{J}_N , παίρνει μεγάλες τιμές η μέση περίοδος δέσμευσης $\mathcal{E}_{tb} \approx \frac{1}{j_{C,p}}$, δηλαδή το CO₂ δρα σαν περιοριστικός παράγοντας για τη σύνθεση των υδατανθράκων. Στην περίπτωση αυτή ο ρυθμός καθαρής παραγωγής των υδατανθράκων δίνεται από τη σχέση $\dot{J}_{CH} = \frac{\epsilon}{K} \frac{1}{j_{CH,m}^{-1} + j_{C,p}^{-1}}$. Αντικαθιστώντας σε αυτήν την εξίσωση (2.6), και απουσία CO₂-αναστολής, γίνεται $\dot{J}_{CH} = \frac{\epsilon \cdot \{j_{CH,m}\} \cdot A_C}{K \cdot (1 + \lambda_2)} \frac{X}{X + \frac{\lambda_2}{1 + \lambda_2} \cdot X_K}$. Ο ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων είναι υπερβολική συνάρτηση της συγκέντρωσης CO₂, X , και ανάλογος της κυτταρικής επιφάνειας A_C . Οι ιδιότητες της εξίσωσης για κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση CO₂ και σε υψηλή συγκέντρωση CO₂ φαίνεται στο Σχήμα 2.6A. Το ειδικό κόστος για τη σύνθεση των υδατανθράκων, $(1 - \epsilon)$, είναι υψηλό για κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση CO₂ επειδή η ενεργητική μεταφορά του διοξειδίου του άνθρακα απαιτεί επιπλέον ποσότητες ATP προκειμένου να υποστηριχτεί η λειτουργία της καρβονικής ανυδράσης (CA) [116] και επηρεάζει το ασυμπτωτικό μέγιστο $\dot{J}_C^m = \frac{\epsilon \cdot \{j_{CH,m}\} \cdot A_C}{1 + \lambda_2}$ της καμπύλης μέσω της παραμέτρου ϵ . Το μέγιστο αυτό είναι χαμηλότερο για τα κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση CO₂ σε σχέση με τα εγκλιματισμένα κύτταρα σε υψηλή συγκέντρωση CO₂. Από την άλλη μεριά, η



Σχήμα 2.5: Ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων συναρτήσει της φωτεινής έντασης και της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα απουσία φωτοαναστολής και CO_2 -αναστολής (σχετικές ποσότητες). Παραμετρικές τιμές: $\lambda_1 = 0.25$, $\lambda_2 = 1$, $\epsilon = 0.4$.

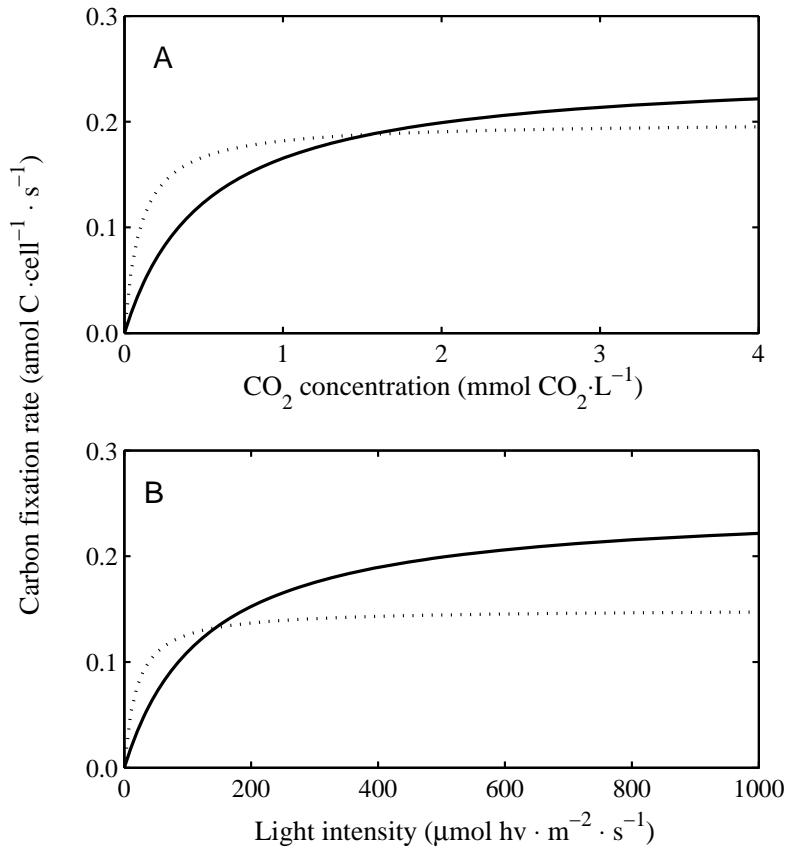
ενεργητική μεταφορά CO_2 εξασφαλίζει υψηλότερη πιθανότητα δέσμευσης CO_2 , ρ_{IC} , και χαμηλότερη σταθερά ημικορεσμού X_K για τα κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση CO_2 . Αυτό οδηγεί σε τομή των καμπυλών της φωτοσύνθεσης [116]. Για μεγάλες τιμές της ροής CO_2 , $\dot{J}_{C,p}$, η μέση περίοδος δέσμευσης γίνεται $\mathcal{E}_{tb} \approx \frac{4}{\dot{J}_N}$, δηλαδή το NADPH δρα σαν περιοριστικός παράγοντας στη σύνθεση των υδατανθράκων. Στην περίπτωση αυτή ο καθαρός ρυθμός παραγωγής υδατανθράκων ποσοτικοποιείται ως εξής $\dot{J}_{CH} = \frac{\epsilon}{K} \frac{1}{j_{CH,m}^{-1} + 4j_N^{-1}}$. Αντικαθιστώντας την εξίσωση (2.6) προκύπτει ότι, απουσία φωτοαναστολής, ο ρυθμός καθαρής παραγωγής υδατανθράκων, σε σχέση με τη φωτεινή ένταση δίνεται από τη σχέση $\dot{J}_{CH} = \frac{\epsilon \cdot 4\lambda_1\lambda_2 \cdot \{S\} \cdot j_{L,m} \cdot A_C}{K \cdot (1+4\lambda_1\lambda_2)} \frac{I}{I + \frac{4\lambda_1\lambda_2}{1+4\lambda_1\lambda_2} \cdot I_K} = \frac{\epsilon \cdot \{j_{CH,m}\} \cdot A_C}{K \cdot (1+4\lambda_1\lambda_2)} \frac{I}{I + \frac{4\lambda_1\lambda_2}{1+4\lambda_1\lambda_2} \cdot I_K}$. Ένα κύτταρο που είναι φωτοεγκλιματισμένο σε LL έχει υψηλότερη πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων ρ_L και χαμηλότερη πυκνότητα PSUS $\{S\}$ σε σχέση με ένα HL φωτοεγκλιματισμένο κύτταρο. Η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων ρ_L επηρεάζει την αρχική κλίση της καμπύλης του ρυθμού ανθρακο-ενσωμάτωσης $\alpha = \frac{\epsilon \cdot A_C \cdot \sigma \cdot \rho_L}{n}$. Η πυκνότητα των PSUS του κυττάρου, $\{S\}$, επηρεάζει το ασυμπτωτικό μέγιστο της καμπύλης $P_{max} = \frac{\epsilon \cdot 4\lambda_1\lambda_2 \cdot \{S\} \cdot j_{L,m} \cdot A_C}{1+4\lambda_1\lambda_2} = \frac{\epsilon \cdot \{j_{CH,m}\} \cdot A_C}{1+4\lambda_1\lambda_2}$.

Επομένως, ο μέγιστος ρυθμός ανθρακοενσωμάτωσης είναι χαμηλός για LL και υψηλός για HL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα του ίδιου μεγέθους, ενώ η κλίση της καμπύλης σε πολύ χαμηλές φωτεινές εντάσεις είναι πιο απότομη για τα LL σε σχέση με τα HL φωτοεγκλιματισμένα κύτταρα του

Πίνακας 2.3: Απόκριση του μέγιστου ρυθμού ανθρακοενσωμάτωσης, P_{max} , και της φωτοσυνθετικής απόδοσης, α , στην ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας που αναπτύσσονται τα κύτταρα, I_g , για τρία στελέχη του *Prochlorococcus* sp., MED, SARG, και NATL1, που απομονώθηκαν στο Βόρειο Ατλαντικό και στη Μεσόγειο Θάλασσα. Τα δεδομένα έχουν ληφθεί από τους [137].

| Στέλεχος | I_g ($\mu\text{mol } h\nu \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) | α ($\text{fg C} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot (\mu\text{mol } h\nu \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$) | P_{max} ($\text{fg C} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) |
|----------|---|---|--|
| MED | 7.5 | 0.174 | 5.19 |
| | 16 | 0.062 | 4.91 |
| | 67 | 0.050 | 5.78 |
| | 133 | 0.073 | 5.85 |
| SARG | 7.5 | 0.234 | 2.76 |
| | 67 | 0.091 | 3.76 |
| | 133 | 0.073 | 6.23 |
| NATL1 | 67 | 0.082 | 3.02 |
| | 133 | 0.059 | 4.17 |

ΐδιου μεγέθους. Οι ιδιότητες αυτές οδηγούν σε τομή των καμπυλών του ρυθμού ανθρακοενσωμάτωσης (Σχήμα 2.6B). Οι Partensky et al. [137] σε ένα πείραμα που σχεδίασαν για να εξετάσουν τον φωτοεγκλιματισμό στελεχών του *Prochlorococcus* sp. (Prochlorophyta) που είχαν απομονωθεί στο Βόρειο Ατλαντικό (SARG και NATL1) και στη Μεσόγειο Θάλασσα (MED) μέτρησαν την απόδοση, α , και τη φωτοσυνθετική ικανότητα, δηλαδή το μέγιστο ρυθμό ανθρακοενσωμάτωσης ανά κύτταρο P_{max} , για τα τρία στελέχη που αναπτύσσονται σε λευκό φως. Βρήκαν ότι ο μέγιστος ρυθμός ανθρακοενσωμάτωσης αυξάνεται και η αρχική κλίση της καμπύλης μειώνεται όταν η φωτεινή ένταση στην οποία αναπτύσσονται τα κύτταρα αυξάνεται (τα δεδομένα τους φαίνονται στον Πίνακα 2.3).



Σχήμα 2.6: Ρυθμός ανθρακοενσωμάτωσης (A) συναρτήσει της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα, όταν το NADPH είναι άφθονο, για κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε υψηλή, high-CO₂, (συνεχής καμπύλη) και χαμηλή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα, low-CO₂ (διακεκομμένη καμπύλη) και (B) συναρτήσει της φωτεινής έντασης, όταν το διοξειδίο του άνθρακα είναι άφθονο, για κύτταρα φωτοεγκλιματισμένα σε υψηλή (συνεχής καμπύλη) και χαμηλή φωτεινή ένταση (διακεκομμένη καμπύλη). Παραμετρικές τιμές: (A) $\{j_{CH,m}\} = 0.1 \text{ } \mu\text{mol C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $\lambda_2 = 1$, $X_K = 1.0 \text{ mM}$, $\epsilon = 0.5$ για τη high-CO₂ καμπύλη και $X_K = 0.2 \text{ mM}$, $\epsilon = 0.4$ για τη low-CO₂ καμπύλη, (B) $\epsilon = 0.5$, $\lambda_1 = 0.25$, $\lambda_2 = 1$, $\{j_{CH,m}\} = 0.1 \text{ } \mu\text{mol C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $I_K = 160 \text{ } \mu\text{mol hν} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, για την HL-καμπύλη και $\{j_{CH,m}\} = 0.06 \text{ } \mu\text{mol C} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $I_K = 24 \text{ } \mu\text{mol hν} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, για την LL-καμπύλη. Για όλα τα κύτταρα θεωρήθηκε ότι $A_c = 1.0 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2$.

2.4 Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκε ένα μηχανιστικό μαθηματικό μοντέλο για την φωτοσύνθεση που ποσοτικοποιεί άμεσα τόσο τις φωτεινές όσο και τις σκοτεινές αντιδράσεις της. Στην ανάπτυξη του μοντέλου λήφθηκε υπόψη η διαθεσιμότητα τόσο του φωτός όσο και του διοξειδίου του άνθρακα, τα οποία αποτελούν τα σημαντικότερα συστατικά στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Συγκεκριμένα, η φωτεινή ένταση και η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα είναι οι ανεξάρτητες μεταβλητές του μοντέλου. Οι εξισώσεις του μοντέλου εξάγονται με τη χρησιμοποίηση της συνθετικής μονάδας όπως αυτή διατυπώθηκε από τον Kooijman [90, 91]. Η προσέγγιση αυτή επιτρέπει την ποσοτικοποίηση της κινητικής των ενζύμων με τη βοήθεια ροών ενέργειας και υποστρωμάτων και όχι με τη βοήθεια

συγκεντρώσεων όπως συμβαίνει στις κλασικές μελέτες για την κινητική των ενζύμων [35, 51, 54, 120, 141, 142, 143, 144, 145, 147, 148, 149]. Αυτή η προσέγγιση μας επιτρέπει να χειριστούμε το φως με τον ίδιο τρόπο που χειρίζόμαστε και τα χημικά συστατικά των φωτοχημικών αντιδράσεων [91]. Ένα άλλο πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι η εύκολη διασύνδεση των φωτεινών με τις σκοτεινές αντιδράσεις. Επιπλέον, παρέχει τη δυνατότητα στο μοντέλο να επεκταθεί ώστε να συμπεριλάβει άλλα ενδιαφέροντα χημικά συστατικά όπως είναι το άζωτο και ο ανόργανος φωσφόρος, και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως είναι η αλατότητα και η θερμοκρασία. Το μοντέλο προβλέπει χωριστά τους ρυθμούς παραγωγής οξυγόνου και NADPH, προϊόντα των φωτεινών αντιδράσεων, το ρυθμό της απορριπτόμενης φωτεινής ενέργειας υπό μορφή φυσιορισμού και το ρυθμό παραγωγής υδατανθράκων, προϊόν των σκοτεινών αντιδράσεων. Ένα απλό μοντέλο που περιλαμβάνει, στις δυναμικές της φωτοσύνθεσης για ανώτερα φυτά, τόσο το φως όσο και το CO₂ [104], κάνει προβλέψεις μόνο για τη φωτοπροσαρμογή τους, βασίζεται σε κλασικές κινητικές ενζύμων και δεν προβλέπει ζεχωριστούς ρυθμούς για τα προϊόντα της φωτοσύνθεσης, αλλά θεωρεί ότι «ο λόγος των ρυθμών παραγωγής CO₂/O₂ μπορεί να θεωρηθεί ίσος με 1». Πάντως, μια τέτοια παραδοχή έρχεται σε αντίθεση με την πειραματική μαρτυρία που λέει ότι ο λόγος των mol C που ενσωματώνεται προς τα mol χράντων φωτός που δεσμεύονται ποικίλει ανάλογα με το είδος του οργανισμού και τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξής του [137].

Κάποια άλλα μοντέλα θεωρούν ότι κάθε παραγωγή που σχετίζεται με τη φωτοσύνθεση είναι παρόμοια και εξαρτάται μόνο από τη φωτεινή ένταση [29, 41, 43, 44, 51, 65, 106, 150, 184, 186]. Τα μοντέλα αυτά παραβλέπουν την άμεση επίδραση του CO₂ στη φωτοσύνθετική διαδικασία και αποφεύγουν να μελετήσουν τον κύκλο Calvin-Benson. Επιπλέον, το μοντέλο που αναπτύχθηκε από τους Camacho et al., 2003 [29] είναι ένα πολύπλοκο μηχανιστικό μοντέλο με αρκετά λάθη, το χειρότερο από τα οποία είναι η παραβίαση του νόμου διατήρησης της ενέργειας. Το μοντέλο που αναπτύχθηκε από την Prezelin, 1981 [150] είναι ένα σχηματικό εμπειρικό μοντέλο, ενώ άλλα μοντέλα είναι στοχαστικά που παραβλέπουν σημαντικές φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες.

Την πάρχουν μοντέλα που ποσοτικοποιούν τον κύκλο Calvin-Benson [141, 144, 147, 148, 149] αλλά, παρότι συμπεριλαμβάνουν πάρα πολλές λεπτομέρειες για την ανθρακοδέσμευση, παραβλέπουν την επίδραση της φωτεινής έντασης στις σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης. Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούν κλασικές κινητικές ενζύμων και παραβλέπουν τη μεταφορά διοξειδίου του άνθρακα, είτε ενεργητικά είτε με διάχυση, μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Με άλλα λόγια, η μεταφορά CO₂ είναι μια διεργασία που σχετίζεται με επιφάνεια και όχι με όγκο, επομένως πρέπει κατά την ποσοτικοποίηση να λαμβάνονται υπόψη τόσο οι συγκεντρώσεις μέσα και έξω από το κύτταρο αλλά και η μεταφορά CO₂ μέσω των κυτταρικών μεμβρανών. Επιπλέον, οι φωτεινές αντιδράσεις είναι διεργασίες που πραγματοποιούνται στις μεμβράνες των θυλακοειδών επομένως εξαρτώνται από την

επιφάνεια και αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην ανάπτυξη ενός μηχανιστικού μαθηματικού μοντέλου. Το παρόν μοντέλο είναι το πρώτο μοντέλο που εμπεριέχει την επιφάνεια του κυττάρου στις εξισώσεις του.

Ο φυσιορισμός είναι ένα επιμέρους φαινόμενο της φωτοσύνθεσης με μεγάλο ενδιαφέρον επειδή εμπλέκεται στους μηχανισμούς ρύθμισης της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας [150] και δεν είχε μοντελοποιηθεί μηχανιστικά στο παρελθόν. Οι πειραματικές παρατηρήσεις δείχνουν ότι ο φυσιορισμός είναι ανάλογος της έντασης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας [38, 70, 94, 105, 150]. Το παρόν μοντέλο προβλέπει ότι ο φυσιορισμός αυξάνεται με την αύξηση της φωτεινής έντασης (εξισωση 2.4) στην οποία αναπτύσσεται το κύτταρο του μικροφύκους.

Στο παρόν μοντέλο ποσοτικοποιήθηκε ο φωτοεγκλιματισμός απουσία φωτοαναστολής. Το κύριο επίτευγμα του μοντέλου, όσον αφορά το φωτοεγκλιματισμό, είναι η πρόβλεψη ότι κύτταρα μικροφύκους που είναι φωτοεγκλιματισμένα σε φως χαμηλής έντασης έχουν χαμηλότερο μέγιστο ρυθμό παραγωγής και μικρότερη σταθερά ημικορεσμού σε σχέση με κύτταρα του ίδιου μεγέθους που είναι φωτοεγκλιματισμένα σε φως υψηλής έντασης, ενώ η αρχική κλίση της PI-χαμπύλης και της χαμπύλης ανθρακοενσωμάτωσης είναι μεγαλύτερη για τα κύτταρα που είναι φωτοεγκλιματισμένα σε χαμηλό φως. Η τομή των PI-χαμπυλών για κύτταρα εγκλιματισμένα σε χαμηλό και υψηλό φωτισμό (Σχήμα 2.2, Σχήμα 2.3, Σχήμα 2.4, Σχήμα 2.6B) έχει παρατηρηθεί και πειραματικά [49, 50, 70, 76, 80, 94, 137, 138] αλλά δεν μπορούσε να προβλεφθεί από τα μέχρι τώρα διατυπωθέντα μοντέλα. Είναι αξιοσημείωτο γεγονός το ότι οι [137] βρήκαν, για δύο στελέχη μικροφύκων του Ατλαντικού που αναπτύχθηκαν σε λευκό φως WL, ότι η αύξηση της φωτεινής έντασης φωτοεγκλιματισμού συνοδεύονταν από μια μεγάλη αύξηση του μέγιστου φωτοσυνθετικού ρυθμού και μια συνακόλουθη μείωση της αρχικής κλίσης της PI-χαμπύλης. Αυτό είχε παρατηρηθεί επίσης στον προκαρυωτικό μικροοργανισμό *Synechococcus* WH 7803 [80], στα πράσινα μικροφύκη *Dunaliella salina* [76], και *Scenedesmus obliquus* [94]. Οι [137] χαρακτήρισαν αυτήν την συμπεριφορά αρκετά παράξενη επειδή δεν μπορούσαν να προσαρμοστούν τέτοιου είδους δεδομένα σε κάποιο από τα υπάρχοντα μαθηματικά μοντέλα για την PI-χαμπύλη. Δυστυχώς, αυτό χαρακτηρίζει όχι μόνο τα μοντέλα που είχαν διατυπωθεί μέχρι το 1993 [43, 44, 51, 163] αλλά και τα μεταγενέστερα [29, 65, 184, 186]. Η αποτυχία προσαρμογής των μαθηματικών μοντέλων σε τέτοια δεδομένα οφείλεται στην παραδοχή τους ότι ο μέγιστος φωτοσυνθετικός ρυθμός μειώνεται όταν η φωτεινή ένταση αυξάνεται. Το παρόν μοντέλο είναι το πρώτο που μπορεί να υποστηρίζει ωφελητικά την συμπεριφορά που έχει παρατηρηθεί πειραματικά.

Με το παρόν μοντέλο ποσοτικοποιήθηκε, επίσης, ο CO₂-εγκλιματισμός απουσία CO₂-αναστολής. Το επίτευγμα του μοντέλου, όσον αφορά τον CO₂-εγκλιματισμό, είναι η πρόβλεψη ότι κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση CO₂ έχουν χαμηλότερο μέγιστο ρυθμό ανθρακοενσω-

μάτωσης και σταύρερά ημικορεσμού σε σχέση με τα ΗL-εγκλιματισμένα κύτταρα, ενώ η αρχική κλίση του ρυθμού ανθρακοενσωμάτωσης, συναρτήσει της συγκέντρωσης, είναι μεγαλύτερη για τα κύτταρα που είναι εγκλιματισμένα σε χαμηλή συγκέντρωση CO₂. Η τομή των δύο καμπυλών του ρυθμού ανθρακοενσωμάτωσης για κύτταρα εγκλιματισμένα σε χαμηλή και υψηλή συγκέντρωση CO₂ (Σχήμα 2.6A) έχει παρατηρηθεί πειραματικά [116] αλλά δεν προβλέπεται από τα υπάρχοντα μαθηματικά μοντέλα.

Η κύρια καινοτομία του παρόντος μοντέλου είναι η ταυτόχρονη ποσοτικοποίηση των φωτεινών και των σκοτεινών αντιδράσεων, λαμβάνοντας υπόψη τόσο τη φωτεινή ένταση όσο και τη συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα, για τους εξής λόγους: 1. ο ανόργανος διαλυμένος άνθρακας είναι απαραίτητο συστατικό για τον κύκλο Calvin-Benson επομένως δεν μπορούμε να τον παραβλέψουμε στη δόμηση του μοντέλου, 2. η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα επηρεάζει δραματικά τις αποκρίσεις του φωτοσυνθετικού μηχανισμού [62, 102, 116, 156, 170], 3. το μοντέλο μπορεί σχετικά εύκολα να τροποποιηθεί και να χρησιμοποιηθεί σε μικτοτροφικά ή/και ετεροτροφικά στάδια ανάπτυξης των μικροφυκών [170] ή σε συνδυασμό με αυτοτροφικά στάδια ανάπτυξης όταν ο φωτισμός είναι περιοδικός, 4. το μοντέλο είναι εύκολο να επεκταθεί και να συνδυαστεί με ένα άλλο μοντέλο που να αφορά στη σύνθεση και τη διάσπαση πρωτεΐνων ή λιπιδίων, και 5. να εξαχθούν χωριστές εξισώσεις για τους ρυθμούς παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου, NADPH, και υδατανθράκων (προϊόντα της φωτοσύνθεσης) που παίζουν διαφορετικούς ρόλους στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης.

Στην παρούσα μελέτη εστιάσαμε στις αποκρίσεις του φωτοσυνθετικού μηχανισμού στον φωτο-εγκλιματισμό και στον CO₂-εγκλιματισμό σε σταύρερή φωτεινή ένταση και σταύρερή συγκέντρωση CO₂. Οι δυνατότητες του μοντέλου μπορούν να αναδειχτούν με την επέκτασή που θα συμπεριλάβει φωτοπροσαρμογή, CO₂-προσαρμογή και φωτοαναστολή όπως θα δούμε στο Κεφάλαιο 3.

2.5 Παράρτημα

Στο παράρτημα αυτό παρατίθεται η διαδικασία ανάπτυξης των εξισώσεων του μοντέλου που αφορούν τις φωτεινές και σκοτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης.

Φωτεινές αντιδράσεις. Θεωρούμε ότι τα φωτόνια που πέφτουν στις λειτουργικές PSUs ακολουθούν κατανομή Poisson με ρυθμό \dot{J}_L . Μια PSU μπορεί να βρίσκεται σε περίοδο δέσμευσης ή σε περίοδο παραγωγής και απαιτεί n φωτόνια για να παράξει ένα μόριο προϊόντος. Έστω ότι η περίοδος δέσμευσης ενός φωτονίου είναι εκθετικά κατανεμημένη τυχαία μεταβλητή με μέση τιμή $\dot{J}_{L,b}^{-1}$. Η περίοδος δέσμευσης για τα n φωτόνια, που είναι το άθροισμα n τυχαίων εκθετικά κατανεμημένων μεταβλητών με παράμετρο $\dot{J}_{L,b}$, ακολουθεί Erlangian κατανομή [119] και έχει μέση τιμή $\mathcal{E}t_b = n\dot{J}_{L,b}^{-1}$. Έστω τώρα ότι η περίοδος δέσμευσης μιας PSU είναι επίσης εκθετικά κατανεμημένη τυχαία μεταβλητή με μέση τιμή $\dot{J}_{L,m}^{-1}$. Μία PSU παράγει το προϊόν Y (μόρια οξυγόνου ή NADPH για τις φωτεινές αντιδράσεις) με ρυθμό $\dot{J}_Y = (\dot{J}_{L,m}^{-1} + n\dot{J}_{L,b}^{-1})^{-1}$, ενώ ένα μεγάλο πλήθος από S λειτουργικές PSUs θα παράγει μια ακολουθία Poisson από μόρια προϊόντος με ρυθμό (δες σελ. 44-45 στον [91])

$$\dot{J}_Y = ((s\dot{J}_{L,m})^{-1} + n\dot{J}_{L,b}^{-1})^{-1}. \quad (2.12)$$

Όταν τα φωτόνια πέφτουν με ρυθμό \dot{J}_L , που δίνεται από την εξίσωση (2.1), και η πιθανότητα δέσμευσης των φωτονίων είναι ρ_L όταν η PSU δεν είναι σε περίοδο παραγωγής, ο μέσος ρυθμός δέσμευσης των φωτονίων είναι ίσος με

$$\dot{J}_{L,b} = \rho_L \dot{J}_L = \rho_L \sigma N_A A_c I. \quad (2.13)$$

Αντικαθιστώντας την εξίσωση (2.13) (μετά από μετατροπή σε mol hv/time) στην εξίσωση (2.12), βρίσκουμε ότι ο ρυθμός παραγωγής των Y μορίων είναι ίσος με

$$\dot{J}_Y = S \dot{J}_{L,m} \frac{I}{I + nS\dot{J}_{L,m}(\rho_L \sigma A_c)^{-1}}. \quad (2.14)$$

Σκοτεινές αντιδράσεις. Στις σκοτεινές αντιδράσεις εμπλέκονται δυο τύποι συνθετικών μονάδων: (1)η CB-SU, που χρησιμοποιεί δύο συμπληρωματικά συστατικά, CO_2 και NADPH, για να παράξει ένα προϊόν, υδατάνθρακες, και (2) τον CO_2 -μεταφορέα, που μεταφέρει το CO_2 από το περιβάλλον στην CB-SU. Ο CO_2 -μεταφορέας μπορεί να είναι είτε σε κατάσταση δέσμευσης, και δεσμεύει τα μόρια CO_2 με πιθανότητα ρ_{IC} ή στην κατάσταση παραγωγής, οπότε δεν δεσμεύει μόρια CO_2 . Θεωρούμε ότι τα μόρια CO_2 φτάνουν στον CO_2 -μεταφορέα ακολουθώντας κατανομή Poisson με ρυθμό $\dot{J}_{C,a}$, που δίνεται από την εξίσωση (2.5). Ο ρυθμός δέσμευσης CO_2 από τον CO_2 -μεταφορέα είναι ίσος με

$$\dot{J}_{C,b} = \rho_{IC} \dot{J}_{C,a} = \rho_{IC} \dot{\zeta} A_c X. \quad (2.15)$$

Έστω ότι οι περίοδοι δέσμευσης και παραγωγής, t_b και t_p , είναι εκθετικά κατανεμημένες τυχαίες μεταβλητές με μέση τιμή $\dot{J}_{C,b}^{-1}$ και $\dot{J}_{C,m}^{-1}$ αντίστοιχα. Η συνολική περίοδος, t_C , του CO₂-μεταφορέα περιλαμβάνει μια περίοδο δέσμευσης και την συνακόλουθη περίοδο παραγωγής, επομένως ο μέσος ρυθμός παραγωγής του CO₂-μεταφορέα, $\dot{J}_{C,p}$, είναι το αντίστριφο της αναμενόμενης τιμής, δηλαδή $\dot{J}_{C,p} = (\dot{J}_{C,b}^{-1} + \dot{J}_{C,m}^{-1})^{-1}$, που μετά την αντικατάσταση του $\dot{J}_{C,b}$ από την εξίσωση (2.15) δίνει

$$\dot{J}_{C,p} = \dot{J}_{C,m} \frac{X}{\dot{J}_{C,m}(\rho_{IC}\zeta A_c)^{-1} + X}. \quad (2.16)$$

Ο CO₂-μεταφορέας τροφοδοτεί με μόρια CO₂ και οι PSUs τροφοδοτούν με μόρια NADPH, τα υποστρώματα αυτά είναι συμπληρωματικά, την CB-SU, με παράλληλη διαδικασία. Η CB-SU απαιτεί ένα μόριο CO₂ και τέσσερα μόρια NADPH για να παράξει ένας μονομερές του υδρογονάνθρακα. Η CB-SU δε δεσμεύει μόρια ενός υποστρώματος, είτε επειδή έχει ήδη δεσμεύσει τον απαιτούμενο αριθμό μορίων αυτού του υποστρώματος αλλά πρέπει να δεσμεύσει το άλλο υπόστρωμα, είτε επειδή είναι στην περίοδο παραγωγής της. Ας υποθέσουμε ότι, η δέσμευση του ενός υποστρώματος δεν αλληλεπιδρά με τη δέσμευση του άλλου υποστρώματος και ότι η περίοδος δέσμευσης ενός μορίου CO₂ είναι t_{b1} και η περίοδος δέσμευσης των τεσσάρων μορίων NADPH είναι t_{b2} . Οι τυχαίες μεταβλητές t_{b1} και t_{b2} ακολουθούν την Erlangian κατανομή, $\phi(t; n, \lambda) = \frac{\lambda(\lambda t)^{n-1}}{(n-1)!} \exp\{-\lambda t\}$, με παραμέτρους $(1, \dot{J}_{C,p})$ και $(4, \dot{J}_N)$, αντίστοιχα. Η διαδικασία δέσμευσης περιορίζεται από τον αργό ρυθμό δέσμευσης ή αλλιώς από το μεγάλο χρόνο δέσμευσης, δηλαδή, το χρονικό διάστημα που απαιτείται για να δεσμευτούν όλα τα απαιτούμενα μόρια υποστρωμάτων είναι ίσο με $t_b = \max\{t_{b1}, t_{b2}\}$. Η συνάρτηση κατανομής του t_b είναι το αποτέλεσμα των συναρτήσεων κατανομής των τυχαίων ανεξάρτητων μεταβλητών t_{b1} και t_{b2} . Δηλαδή, (δες επίσης σελίδες 45-48 στον [91] για μια γενικότερη εικόνα)

$$\Phi_{t_b}(t) = \left(1 - \exp\{-\dot{J}_{C,p}t\}\right) \left(1 - \sum_{i=0}^3 \frac{(\dot{J}_N t)^i}{i!} \exp\{-\dot{J}_N t\}\right).$$

Η αναμενόμενη τιμή της περιόδου δέσμευσης είναι $\mathcal{E}t_b = \int_0^\infty (1 - \Phi_{t_b}(t)) dt$, που μετά από πράξεις γίνεται

$$\mathcal{E}t_b = \frac{4}{\dot{J}_N} + \frac{1}{\dot{J}_{C,p}} - \sum_{i=0}^3 \frac{\dot{J}_N^i}{(\dot{J}_N + \dot{J}_{C,p})^{i+1}}. \quad (2.17)$$

Η αναμενόμενη τιμή της περιόδου για μια πλήρη ολοκλήρωση της διαδικασίας της CB-SU είναι $\mathcal{E}t_c = \dot{J}_{CH,m}^{-1} + \mathcal{E}t_b$, όπου $\dot{J}_{CH,m}^{-1}$ είναι το μέσο χρονικό διάστημα ανθρακοενσωμάτωσης για ένα κύκλο της CB-SU. Μετά από K σειριακούς κύκλους παράγεται το τελικό προϊόν της CB-SU με μέσο ρυθμό

$$\dot{J}_{CH,t} = \frac{1}{K} \left(\dot{J}_{CH,m}^{-1} + \frac{4}{\dot{J}_N} + \frac{1}{\dot{J}_{C,p}} - \sum_{i=0}^3 \frac{\dot{J}_N^i}{(\dot{J}_N + \dot{J}_{C,p})^{i+1}} \right)^{-1}. \quad (2.18)$$

Κεφάλαιο 3

Προσαρμογή των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες Φωτός και Διοξειδίου του άνθρακα

Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο αναπτύσσεται ένα δυναμικό μαθηματικό μοντέλο, σε κυτταρικό επίπεδο, για τη διαδικασία πρόσληψης της φωτεινής ενέργειας, τον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης, και τη φωτοαναστολή και επιδιόρθωση των φωτοσυνθετικών μονάδων, όταν ο φωτοσυνθετικός μικροοργανισμός αναπτύσσεται σε περιβάλλον μεταβαλλόμενης φωτεινής έντασης και διοξειδίου του άνθρακα. Η μοντελοποίηση της δέσμευσης της φωτεινής ενέργειας και η απόρριψη μέρους της δεσμευμένης ενέργειας βασίζεται στις φωτοπροσαρμοστικές αλλαγές των υποκείμενων μηχανισμών. Ο επιμερισμός της ενέργειας διέγερσης βασίζεται στη σχετική διαθεσιμότητα φωτός και διοξειδίου του άνθρακα. Η μοντελοποίηση της φωτοαναστολής βασίζεται στην ομόφωνη άποψη ότι συμβαίνει σε οποιαδήποτε φωτεινή ένταση και η μοντελοποίηση της επιδιόρθωσης βασίζεται στην πειραματική μαρτυρία ότι ελέγχεται από ένζυμα που είναι κωδικοποιημένα στο γενετικό υλικό τόσο του χλωροπλάστη όσο και του πυρήνα. Το μοντέλο συνδέει τη διαδικασία δέσμευσης της φωτεινής ενέργειας και τον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης στη γραμμική ροή ηλεκτρονίων και άλλους αποσβέστες με παραμέτρους του επαγωγικού φύσισμού, και τον αριθμό των λειτουργικών φωτοσυνθετικών μονάδων με το ρυθμό παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου. Η ενέργεια που επενδύεται στη γραμμική ροή ηλεκτρονίων (LEF) αυξάνεται όταν αυξάνεται η διαθεσιμότητα διοξειδίου του άνθρακα ή/και μειώνεται η φωτεινή ένταση. Ο ρυθμός της απορριπτόμενης δεσμευμένης ενέργειας αυξάνεται όταν αυξάνεται η φωτεινή ένταση και η διαθεσιμότητα διοξειδίου του άνθρακα. Ο συντελεστής φωτοαναστολής, όπως προ-

κύπτει από το μοντέλο, αυξάνεται με την αύξηση της φωτεινής έντασης ή/και με την αύξηση της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα. Το μοντέλο ελέγχθηκε με πειραματικά δεδομένα επαγωγικού φυλορισμού και παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου από μετρήσεις που έγιναν σε καλλιέργειες του μονοκύτταρου χλωροφύκους *Scenedesmus obliquus*, και διαπιστώθηκε πολύ καλή ποιοτική και ποσοτική συμφωνία μεταξύ των προβλέψεων του μοντέλου και των πειραματικών δεδομένων.

3.1 Εισαγωγή

Τα φωτοσυνθετικά κύτταρα διαθέτουν μηχανισμούς δέσμευσης του φωτός και του CO₂ ώστε να είναι ικανά να μετατρέπουν τη φωτεινή ενέργεια σε βιοχημική ενέργεια. Τα κύτταρα αυτά ανταποκρίνονται στις αλλαγές διαθεσιμότητας του φωτός με ευέλικτη διαμόρφωση του μεγέθους και της σύστασης των φωτοσυλλεκτικών τους κεραιών [96]. Επιπλέον, ο φωτοσυνθετικός τους μηχανισμός είναι ικανός να ρυθμίζει τη γραμμική ροή ηλεκτρονίων (LEF) έναντι της κυκλικής ροής ηλεκτρονίων (CEF) ανάλογα με τις απαιτήσεις για ATP και αναγωγικά ισοδύναμα [124]. Η ρύθμιση των αλυσίδων μεταφοράς ηλεκτρονίων συμβαίνει μέσω μηχανισμών που επηρεάζονται τόσο από την προσφορά όσο και από τη ζήτηση των απαιτούμενων συστατικών [124].

Κατά την έκθεση των χλωροπλαστών στο φως, διεγείρονται η ATP-συνθάση και τα απαραίτητα ένζυμα στο στρώμα για να ικανοποιήσουν τις απαιτήσεις του κύκλου Calvin-Benson [124]. Ταυτόχρονα, οι «μεταβάσεις κατάστασης» ρυθμίζουν ακαριαία τη μεταφορά ενέργειας από τη φωτοσυλλεκτική κεραία στο ενεργό κέντρο του φωτοσυστήματος II (PS II) και του φωτοσυστήματος I (PS I) και διεγείρουν τη σύνθεση του ATP στην ATP-συνθάση προκειμένου να αποφευχθεί τυχόν ανεπάρκεια σε CO₂ [156]. Η ρύθμιση αυτών των ευέλικτων μηχανισμών προσφέρει στο φωτοσυνθετικό μηχανισμό ενεργειακή επάρκεια και προστασία [88, 96].

Το φωτοσυνθετικό κύτταρο, αποκρινόμενο στη διαθεσιμότητα του φωτός, ρυθμίζει το μέγεθος της λειτουργικής του κεραίας [77, 136]. Το μέγεθός της αυξάνεται σε περιβάλλον χαμηλής φωτεινής έντασης για να ενισχυθεί η δέσμευση των φωτονίων, όμως μειώνεται και πάλι όταν αυξηθεί η φωτεινή ένταση για να αποφευχθεί η υπερδιέγερση των φωτοσυστημάτων και η τυχόν βλάβη τους λόγω φωτοοξείδωσης [77]. Η ενέργεια διέγερσης κατανέμεται στη LEF, τη CEF, τον κύκλο νερού-νερού WWC, ή/και άλλες διεργασίες απόσβεσης της δεσμευμένης ενέργειας [11].

Η σταθμισμένη κατανομή, της ενέργειας διέγερσης στα φωτοσυστήματα επιτυγχάνεται με τις «μεταβάσεις κατάστασης» [22]. Σε περιβάλλον χαμηλής έντασης ευνοείται η κατάσταση 1, αλλά αυτή η προτίμηση υποβαθμίζεται καθώς αυξάνεται η φωτεινή ένταση για να καταλήξει σε εύνοια της κατάστασης 2 σε υψηλές φωτεινές εντάσεις [57]. Η φωτεινή ενέργεια που δεσμεύεται από την κεραία και η κατανομή της ενέργειας διέγερσης στο PS I ή στο PS II εξαρτάται από την κατάσταση φωτοεγκλιψμού του κυττάρου [57] και ελέγχεται από την ενδοκυτταρική απαίτηση σε ATP [28]. Τα μικροφύκη και τα κυανοβακτήρια που αναπτύσσονται σε περιβάλλον χαμηλής διαθεσιμότητας CO₂ ευνοούν τη μετάβαση στην κατάσταση 2 και παράγουν το επιπλέον ATP που είναι απαραίτητο για τη λειτουργία των μηχανισμών συγκέντρωσης CO₂ [156].

Πάντως, αν η φωτεινή ένταση γίνει πάρα πολύ υψηλή, η ενέργεια διέγερσης διοχετεύεται σε μηχανισμούς μη φωτοχημικής απόσβεσης όπως ο κύκλος της Ξανθοφύλλης [33].

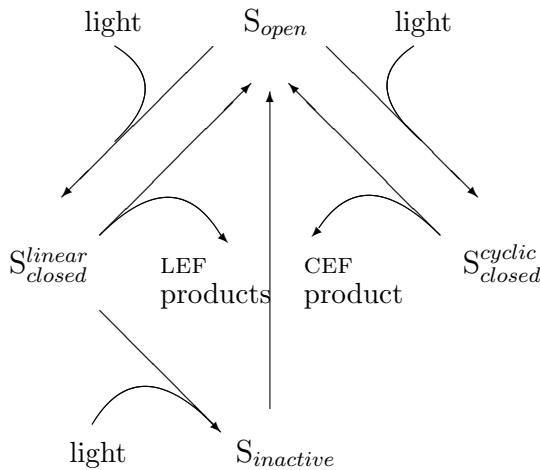
Η χρησιμοποίηση της φωτεινής ενέργειας από το κύτταρο προκαλεί μη αναστρέψιμη βλάβη στα PS II ανεξάρτητα από την τιμή της φωτεινής έντασης [110]. Βέβαια, το μέγεθος της ζημιάς εξαρτάται από την τιμή της φωτεινής έντασης και αυξάνεται καθώς αυτή αυξάνεται. Οι οξυγονικοί φωτοσυνθετικοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει αποδοτικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης των PS II που εξασφαλίζουν την επιλεκτική αποδόμηση των κατεστραμμένων πρωτεΐνων και την αντικατάστασή τους από νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες ώστε να συντεθούν ξανά λειτουργικά PS II [110]. Αν ο ρυθμός φωτοκαταστροφής των PS II ξεπεράσει το ρυθμό επιδιόρθωσης και ανασύνθεσής τους, παρατηρείται μείωση της φωτοχημικής δραστηριότητας των PS II που ονομάζεται Φωτοαναστολή [88].

Παρά το μεγάλο αριθμό πειραματικών παρατηρήσεων όσον αφορά τις αποκρίσεις του φωτοσυνθετικού μηχανισμού στις μεταβολές της διαθεσιμότητας φωτός και CO₂, η θεωρητική μελέτη είναι ελάχιστη. Επιπροσθέτως, τα υπάρχοντα, σε κυτταρικό επίπεδο, μαθηματικά μοντέλα ασχολούνται μόνο με τους μηχανισμούς φωτοαπενεργοποίησης και επιδιόρθωσης της D1 πρωτεΐνης [67] ή του PS II [32, 71, 99, 177] ή των φωτοσυνθετικών μονάδων [36, 44, 66, 88, 153, 186], παραβλέποντας το θεμελιακό ρόλο της λειτουργικής κεραίας και το ρόλο του επιμερισμού της δεσμευμένης ενέργειας [136] και, επιπλέον, δεν λαμβάνουν υπόψη την επίδραση του CO₂. Οι Ross et al. (2008) [152] ενώ λαμβάνουν υπόψη το ρόλο της κεραίας στην τροφοδότηση των PS II (LEF) θεωρώντας ότι μειώνεται η ενεργός διατομή απορρόφησης φωτονίων για το PS II, δεν λαμβάνουν υπόψη τον κύριο προστατευτικό μηχανισμό, δηλαδή την CEF.

Η μελέτη αυτή εστιάζει στους κύριους μηχανισμούς δέσμευσης των φωτονίων, στον επιμερισμό της δεσμευμένης ενέργειας, και τις μεταβάσεις των φωτοσυνθετικών μονάδων (PSUS) μεταξύ των διαφορετικών καταστάσεών τους. Ακολουθείται η παραδοχή ότι οι μεταβάσεις τους συμβαίνουν μεταξύ τριών καταστάσεων, δηλαδή, ανοικτές, κλειστές και ανενεργές PSUS [66] και, επιπλέον, διακρίνονται οι κλειστές PSUS σε αυτές που εξυπηρετούν τη LEF και αυτές που εξυπηρετούν τη CEF. Το μαθηματικό μοντέλο που αναπτύσσεται ποσοτικοποιεί τους μηχανισμούς που ρυθμίζουν αυτές τις βιοενεργητικές της φωτοσύνθεσης προκειμένου να έχει ισχύ όταν αλλάζει η διαθεσιμότητα φωτός και CO₂. Το μοντέλο ελέγχθηκε με πειραματικά δεδομένα επαγωγικού φύορισμού και παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου που πάρθηκαν από αυτοτροφικές καλλιέργειες του μονοκύτταρου χλωροφύκους *Scenedesmus obliquus*.

3.2 Το μοντέλο της προσαρμογής

Η παρούσα μοντελοποίηση βασίζεται στην ιδέα της φωτοσυνθετικής μονάδας PSU που όντας η μικρότερη και απλούστερη λειτουργική δομή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού [150]. Θεωρούμε, όπως και σε μια προηγούμενη μελέτη [132], ότι κάθε PSU αποτελείται από το σύμπλοκο συλλογής φωτός, το *cytb6f*, και την ATP-ase, και ότι χρησιμοποιεί μία αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων για κάθε διαδικασία που ποσοτικοποιείται [129]. Θεωρούμε ότι οι δύο κύριες φυσιολογικές διεργασίες που εμπλέκονται στη ρύθμιση των λειτουργικών PSUs είναι η φωτοαπενεργοποίηση και η επιδιόρθωση. Οι διεργασίες αυτές πραγματοποιούνται σε οποιαδήποτε φωτεινή ένταση, είναι ανεξάρτητες και συμβαίνουν ταυτόχρονα [122]. Μια PSU μπορεί να είναι είτε λειτουργική είτε απενεργοποιημένη. Μια λειτουργική PSU μπορεί να είναι είτε ανοιχτή είτε κλειστή. Στο Σχήμα 3.1 παρουσιάζονται οι διαφορετικές καταστάσεις μιας PSU.

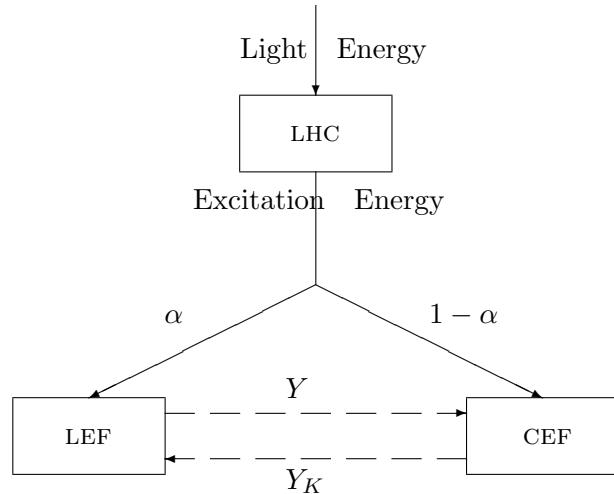


Σχήμα 3.1: Μεταβάσεις μεταξύ των τεσσάρων καταστάσεων των PSUs: ανοιχτή (S_{open}), κλειστή που εξυπηρετεί τη LEF (S_{closed}^{linear}), κλειστή που εξυπηρετεί τη CEF (S_{closed}^{cyclic}), και απενεργοποιημένη ($S_{inactive}$). Μια ανοιχτή PSU δεσμεύει τον αριθμό φωτονίων που απαιτούνται για να διεγερθεί και γίνεται κλειστή (S_{closed}^{linear} ή S_{closed}^{cyclic} αν εξυπηρετεί τη CEF). Οι κλειστές PSUs παράγουν τα προϊόντα τους και γίνονται ανοιχτές, όμως αν μια S_{closed}^{linear} PSU δεσμεύει επιπλέον φωτόνια γίνεται ανενεργή ($S_{inactive}$). Η επιδιόρθωση μιας απενεργοποιημένης PSU δίνει μια ανοιχτή λειτουργική PSU χωρίς να παραχθεί κάποιο προϊόν.

Το LHC μιας ανοιχτής PSU, S_{open} , δεσμεύει τον απαιτούμενο αριθμό φωτονίων και γίνεται κλειστή. Η ενέργεια διέγερσης διοχετεύεται στη συνέχεια είτε στη LEF, οπότε η PSU γίνεται S_{closed}^{linear} , είτε στη CEF, οπότε γίνεται S_{closed}^{cyclic} . Υπό φυσιολογικές συνθήκες μια κλειστή PSU παράγει το προϊόν της και γίνεται ανοιχτή. Πάντως, η δέσμευση από μια κλειστή PSU επιπλέον ενέργειας, της προκαλεί μη αναστρέψιμη βλάβη και την απενεργοποίησή της. Για την απενεργοποίηση των PS II και PS I έχει προταθεί ότι ευθύνονται διάφοροι μηχανισμοί [84, 123, 169, 179]. Παρά τις διαφωνίες για τους μηχανισμούς που ευθύνονται για την απενεργοποίηση των λειτουργικών PSUs, υπάρχει ένα σημείο

ομοφωνίας: η απενεργοποίηση μιας λειτουργικής PSU συμβαίνει όταν προσλάβει επιπλέον ενέργεια ενόσω βρίσκεται ακόμη στην κατάσταση S_{closed}^{linear} . Η απενεργοποίηση της PSU οφείλεται σε μη αναστρέψιμη βλάβη ενζύμων-κλειδιών των φωτοσυστημάτων [1, 127]. Ενώ είναι ευρέως αποδεκτό ότι η φωτοοξειδωτική ζημιά συμβαίνει στο PS II, τον πρωτεύοντα στόχο της φωτοαναστολής [1], υπάρχει πειραματική μαρτυρία για απενεργοποίηση και του PS I, ειδικά σε συνθήκες ασθενούς φωτισμού και σε συνδυασμό με χαμηλές θερμοκρασίες [183]. Σε κάθε περίπτωση όμως η CEF δεν φωτοαναστέλλεται [75]. Θεωρούμε ότι η δέσμευση ενέργειας από μια PSU που βρίσκεται σε κατάσταση S_{closed}^{linear} προκαλεί μη αναστρέψιμη βλάβη στην PSU με αποτέλεσμα να απενεργοποιηθεί, $S_{inactive}$. Η επιδιόρθωση μιας απενεργοποιημένης PSU δίνει μια ανοιχτή λειτουργική PSU χωρίς να παραχθεί κάποιο προϊόν.

Επιμερισμός της ενέργειας διέγερσης σε LEF και CEF – Στο Σχήμα 3.2 παρουσιάζεται το σχηματικό μοντέλο της διαδικασίας δέσμευσης της φωτεινής ενέργειας και του μηχανισμού με τον οποίο επιμερίζεται η ενέργειας διέγερσης.



Σχήμα 3.2: Το σχηματικό μοντέλο των διαδικασιών δέσμευσης της φωτεινής ενέργειας και του μηχανισμού με τον οποίο επιμερίζεται η ενέργεια διέγερσης στη LEF και στη CEF. Τα συνεχόμενα βέλη παριστάνουν τις ενεργειακές ροές και τα διακοπτόμενα τις μεταβάσεις κατάστασης μεταξύ LEF και CEF. Η φωτεινή ενέργεια δεσμεύεται από το LHC και διεγίρει τις φωτοσυνθετικές του χρωστικές. Ένα ποσοστό α της ενέργειας διέγερσης επενδύεται στη LEF ενώ το υπόλοιπο $(1 - \alpha)$ επενδύεται στη CEF. Ο ρυθμός μετάβασης από τη LEF στη CEF εξαρτάται από το πηλίκο της φωτεινής έντασης προς την επιφανειακή συγκέντρωση του CO₂, $Y = \frac{I}{\zeta X}$, ενώ ο ρυθμός μετάβασης από τη CEF στη LEF εξαρτάται από την αγωγιμότητα Y_K της ATP-συνθάσης.

Ο Πίνακας 3.1 περιέχει τις μεταβλητές και τις παραμέτρους του μοντέλου. Το LHC, που περιέχει το σύνολο της χλωροφύλλης της λειτουργικής PSU, δεσμεύει τη φωτεινή ενέργεια για παραπέρα φωτοχημική χρήση. Η δεσμευμένη ενέργεια μπορεί να κατευθυνθεί στο ενεργό κέντρο είτε του PS II είτε του PS I μέσω των μεταβάσεων κατάστασης [22] ή μπορεί να εκπεμφθεί στο περιβάλλον μέσω των φωτοπροστατευτικών μηχανισμών όπως είναι ο κύκλος της ξανθοφύλλης [39].

Πίνακας 3.1: Μεταβλητές και παράμετροι του μοντέλου.

| Σύμβολο | Σημασία | Μονάδα μέτρησης |
|--------------------------------|---|---|
| I | Φωτεινή ένταση | $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ |
| X | συγκέντρωση CO_2 | mM |
| $\rho, \rho_L, \rho_C, \rho_I$ | Πιθανότητες δέσμευσης φωτονίων | — |
| ρ_0, ρ_{min} | Μέγιστη-, ελάχιστη πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων | — |
| β | Συντελεστής μεταβολής του LHC | — |
| p | Συντελεστής ελαστικότητας του LHC | — |
| I_a | Φωτεινή ένταση ανάπτυξης του κυττάρου | $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ |
| α | Συντελεστής επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης | — |
| ζ | συντελεστής απορρόφησης CO_2 από το κύτταρο | μm |
| Y_K | Αγωγιμότητα της ATP συνθάσης | $\text{mol photons (mol CO}_2)^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| S_O, S_I | Ποσοστό ανοιχτών, — ανενεργών PSUs | — |
| S_L, S_C | Ποσοστό των κλειστών PSUs που εξυπηρετούν τη LEF, —CEF | — |
| k_L, k_C | Ρυθμός επεξεργασίας της LEF, —CEF | s^{-1} |
| k_R | Ρυθμός επιδιόρθωσης των απενεργοποιημένων PSUs | s^{-1} |
| j_L | Ειδικός ρυθμός άφιξης των φωτονίων στις PSUs | $\text{mol photons (mol PSU)}^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| A_c | Εμβαδόν κυτταρικής επιφάνειας | μm^2 |
| σ | Ενεργός διατομή απορρόφησης του κυττάρου σε φωτόνια | — |
| N | Συνολικός αφιθμός των PSUs του κυττάρου | — |
| n_L, n_C | Ποσότητα των απαιτούμενων φωτονίων για τη διέγερση μιας PSU που εξυπηρετεί τη LEF, — τη CEF | mol photons |
| n_I | Ποσότητα των απαιτούμενων φωτονίων για τη αποδιέγερση μιας PSU | mol photons |
| $j_{P,L}, j_{P,C}$ | Ειδικός ρυθμός παραγωγής της LEF, — της CEF | $\text{mol product PSU}^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| j_R | Ειδικός ρυθμός απόρριψης της δεσμευμένης ενέργειας | $\text{mol photons PSU}^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| J_O | Ρυθμός παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου | $\text{amol O}_2 \text{ s}^{-1}$ |
| k_i | Ειδικός ρυθμός φωτοαπενεργοποίησης των PSUs | h^{-1} |

Όταν το φωτοσυνθετικό κύτταρο εκτεθεί στο φως, το LHC κάθε ανοιχτής λειτουργικής PSU δεσμεύει ένα ποσοστό ρ της διαθέσιμης φωτεινής ενέργειας ενώ το υπόλοιπο $(1 - \rho)$ χάνεται, επειδή πολλά φωτόνια είτε δεν χτυπούν σε φωτοσυνθετικές χρωστικές είτε επανεκπέμπονται σαν θερμότητα ή σαν φυσορισμός. Ένα ποσοστό α της ενέργειας διέγερσης επενδύεται στη LEF ενώ το υπόλοιπο $(1 - \alpha)$ επενδύεται στη CEF και τον WWC. Η παράμετρος ρ εκφράζει τη φωτοσυνθετική απόδοση της PSU και οι παράμετροι $\rho_L = \alpha\rho$ και $\rho_C = (1 - \alpha)\rho$ εκφράζουν τα ποσοστά της ενέργειας διέγερσης που επενδύονται στη LEF και στη CEF, αντίστοιχα. Στη συνέχεια οι παράμετροι αυτές θα αναφέρονται ως πιθανότητες δέσμευσης των φωτονίων. Οι κύριοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που προκαλούν βραχυχρόνιες αλλαγές στον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης είναι η φωτεινή ένταση I και η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα X [117, 168]. Με την αύξηση της φωτεινής έντασης ή/και τη μείωση της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα, ενισχύεται η CEF έναντι της LEF, όσον αφορά στον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης [118, 168]. Θεωρούμε ότι ο κανόνας διαχείρισης της ενέργειας διέγερσης καθορίζεται από το λόγο $Y = \frac{I}{\zeta X}$, όπου I είναι η ένταση της προσπίπτουσας φωτεινής ακτινοβολίας και ζX είναι η επιφανειακή συγκέντρωση CO_2 . Ο λόγος Y

σχετίζεται με την κινητήρια δύναμη των πρωτονίων (pmf) που ευνοεί τη μετάβαση από τη LEF στη CEF ενώ η αντίστροφη μετάβαση (από τη CEF στη LEF) εξαρτάται από την αγωγιμότητα της ATP συνθάσης [96], και παριστάνεται από την παράμετρο Y_K . Οι δυναμικές του μηχανισμού με τον οποίο επιμερίζεται η ενέργεια διέγερσης περιγράφονται από τις ακόλουθες διαφορικές εξισώσεις.

$$\begin{aligned}\frac{d\rho_L}{dt} &= -Y\rho_L + Y_K\rho_C, \\ \frac{d\rho_C}{dt} &= Y\rho_L - Y_K\rho_C.\end{aligned}\tag{3.1}$$

Σε κατάσταση ισορροπίας, η επίλυση των παραπάνω εξισώσεων (3.1) δίνει: $\rho_C = \frac{Y}{Y_K}\rho_L$. Δεδομένου ότι $\rho_L = \alpha\rho$, $\rho_C = (1 - \alpha)\rho$, και $\rho = \rho_L + \rho_C$, η τιμή του συντελεστή επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης α , σε κατάσταση ισορροπίας, είναι

$$\alpha = \frac{Y_K}{Y + Y_K}.\tag{3.2}$$

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η παράμετρος ρ εκφράζει τη φωτοσυνθετική απόδοση μιας λειτουργικής PSU. Το φωτοσυνθετικό κύτταρο ρυθμίζει ακαριαία τη φωτοσυνθετική απόδοση κάθε λειτουργικής του PSU [69] αποκρινόμενο στη μεταβολή της φωτεινής έντασης [79]. Θεωρούμε ότι το φώς προκαλεί τη ρύθμιση της πιθανότητας δέσμευσης ρ σύμφωνα με την εξίσωση

$$\frac{d\rho}{dI} = -k(I)(\rho - \rho_{min}),\tag{3.3}$$

όπου το ρ_{min} είναι η ελάχιστη τιμή της πιθανότητας δέσμευσης (δηλαδή σε πολύ υψηλή φωτεινή ένταση) και το k είναι μια θετική μη φυσική συνάρτηση της φωτεινής έντασης. Οι δύο αυτές παράμετροι εξαρτώνται από το παρελθόν και την παρούσα κατάσταση του κυττάρου. Μια καλή εκδοχή του τρόπου μείωσης του ρ καθώς αυξάνεται το I , είναι η συνάρτηση

$$k(I) = \beta \frac{p+1}{I_a} \left(\frac{I}{I_a} \right)^p,\tag{3.4}$$

όπου τα β και p είναι αδιάστατες μη αρνητικές σταθερές που εξαρτώνται από τη θερμοκρασία και το στάδιο ανάπτυξης του κυττάρου, και το I_a είναι η φωτεινή ένταση αναφοράς για το κύτταρο. Η επίλυση της εξίσωσης (3.3) με το k να δίνεται από την εξίσωση (3.4) δίνει

$$\rho(I) = \rho_{min} + (\rho_0 - \rho_{min}) e^{-\beta \left(\frac{I}{I_a} \right)^{p+1}},\tag{3.5}$$

όπου το $\rho_0 \equiv \rho(0)$ είναι η αρχική τιμή της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων (δηλαδή σε μηδενική φωτεινή ένταση).

Ρύθμιση των PSUs – Οι φωτοσυνθετικές μονάδες μπορεί να είναι είτε λειτουργικές, ανοιχτές ή κλειστές, είτε απενεργοποιημένες (Σχήμα 3.1). Σε συγκεκριμένη φωτεινή ένταση I, ο ρυθμός

άφιξης φωτονίων στο κύτταρο είναι ανάλογος του I. Αν N είναι ο αριθμός των PSUS ανά κύτταρο, τότε ο ειδικός (ανά PSU) ρυθμός άφιξης των φωτονίων είναι ίσος με $j_L = \sigma A_c I / N$, όπου A_c είναι το εμβαδόν της κυτταρικής επιφάνειας και σ είναι το ποσοστό των φωτονίων που πέφτουν σε PSUS [132]. Μια ανοιχτή PSU δεσμεύει φωτόνια προκειμένου να εξυπηρετήσει είτε τη LEF είτε CEF. Όταν μια ανοιχτή PSU εξυπηρετεί τη LEF δεσμεύει n_L φωτόνια με πιθανότητα ρ_L ώστε να εξασφαλίσει την απαιτούμενη ενέργεια για να γίνει κλειστή, S_{closed}^{linear} .

Όταν μια ανοιχτή PSU εξυπηρετεί τη CEF δεσμεύει n_C φωτόνια με πιθανότητα ρ_C και γίνεται κλειστή, S_{closed}^{cyclic} . Μια PSU που βρίσκεται στην κατάσταση S_{closed}^{linear} έχει τη δυνατότητα να ξαναγίνει ανοιχτή S_{open} παράγοντας τα προϊόντα της LEF ή να δεσμεύσει n_I επιπλέον φωτόνια με πιθανότητα ρ_I και να απενεργοποιηθεί, $S_{inactive}$. Μια PSU που βρίσκεται στην κατάσταση S_{closed}^{cyclic} επιστρέφει στην ανοιχτή κατάσταση, S_{open} σχηματίζοντας τα προϊόντα της CEF. Ο ρυθμός επεξεργασίας μιας κλειστής PSU που βρίσκεται στην κατάσταση S_{closed}^{linear} είναι k_L και στην S_{closed}^{cyclic} κατάσταση είναι k_C . Οι απενεργοποιημένες PSUS επιδιορθώνονται με ρυθμό k_R . Έστω S_O, S_L, S_C , και S_I τα ποσοστά των PSUS που βρίσκονται στις καταστάσεις $S_{open}, S_{closed}^{linear}, S_{closed}^{cyclic}$, και $S_{inactive}$, αντίστοιχα. Έστω $j_{LL} = \rho_L j_L / n_L$ και $j_{LC} = \rho_C j_L / n_C$ οι ρυθμοί της ενέργειας διέγερσης προς τη LEF και τη CEF, αντίστοιχα, και $j_{LI} = \rho_I j_L / n_I$ ο ρυθμός πρόσπτωσης φωτονίων που απενεργοποιεί μια PSU που εξυπηρετεί τη LEF. Οι μεταβολές στα ποσοστά των PSUS δίνονται από τις διαφορικές εξισώσεις

$$\begin{aligned} \frac{dS_O}{dt} &= -(j_{LL} + j_{LC})S_O + k_L S_L + k_C S_C + k_R S_I, \\ \frac{dS_L}{dt} &= j_{LL}S_O - j_{LI}S_L - k_L S_L, \\ \frac{dS_C}{dt} &= j_{LC}S_O - k_C S_C, \\ \frac{dS_I}{dt} &= j_{LI}S_L - k_R S_I, \\ S_O + S_L + S_C + S_I &= 1. \end{aligned} \tag{3.6}$$

Η επίλυση του συστήματος των εξισώσεων (3.6) σε κατάσταση ισορροπίας δίνει

$$\begin{aligned} S_O^{ss} &= \left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}} \right) \left[\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}} \right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C} \right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R} \right) \right]^{-1}, \\ S_L^{ss} &= \left[\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}} \right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C} \right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R} \right) \right]^{-1}, \\ S_C^{ss} &= \frac{j_{LC}}{k_C} \left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}} \right) \left[\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}} \right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C} \right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R} \right) \right]^{-1}, \\ S_I^{ss} &= \frac{j_{LI}}{k_R} \left[\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}} \right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C} \right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R} \right) \right]^{-1}. \end{aligned} \tag{3.7}$$

Ρυθμοί παραγωγής – Οι ειδικοί ρυθμοί παραγωγής των LEF και CEF δίνονται από τις εξισώσεις $j_{P,L} = y_L k_L S_L$ και $j_{P,C} = y_C k_C S_C$, αντίστοιχα, όπου το y_* δείχνει τα mol των προϊόντων ανά mol

φωτονίων. Σε κατάσταση ισορροπίας οι ρυθμοί αυτοί είναι ίσοι με

$$j_{P,L} = y_L \frac{k_L}{\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)}, \quad (3.8)$$

$$j_{P,C} = y_C \frac{j_{LC} \left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right)}{\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)}. \quad (3.9)$$

Ρυθμός απορριπτόμενης ενέργειας – Η δέσμευση των φωτονίων συμβαίνει στις φωτοσυνθετικές χρωστικές κατά τη διάρκεια της διέγερσής τους από τη θεμελιώδη στη διεγερμένη κατάσταση. Αν όλες οι χρωστικές βρίσκονται στη διεγερμένη κατάσταση, η επιπλέον ενέργεια διέγερσης αποβάλλεται υπό μορφή θερμότητας, που οδηγεί σε μη φωτοχημική απόσβεση επαγωγικού φθορισμού [150]. Ο ρυθμός της απορριπτόμενης ενέργειας από την PSU υπολογίζεται μέσω της διαφοράς του ειδικού ρυθμού άφιξης των φωτονίων στην PSU (j_L) και του ειδικού ρυθμού χρησιμοποίησης των φωτονίων από τη LEF ($n_L k_L S_L$) και τη CEF ($n_C k_C S_C$). Σε κατάσταση ισορροπίας ο ρυθμός αυτός είναι ίσος με

$$j_R = j_L - \frac{n_L k_L \left(1 + \frac{\rho_C}{\rho_L}\right) + \rho_C j_L \frac{\rho_I n_L}{\rho_L n_I}}{\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)}. \quad (3.10)$$

Ρυθμός φωτοαπενεργοποίησης – Ο ειδικός ρυθμός (ανά PSU) φωτοαπενεργοποίησης δίνεται από τη σχέση $k_i = j_{LI} S_L$ και σε κατάσταση ισορροπίας είναι ίσος με

$$k_i = \frac{j_{LI}}{\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)}. \quad (3.11)$$

Ρυθμός παραγωγής Οξυγόνου – Το οξυγόνο είναι προϊόν της LEF. Ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου ανά κύτταρο είναι ανάλογος του ειδικού ρυθμού παραγωγής της LEF $j_{P,L}$ και του αριθμού των PSUs. Επομένως, σε κατάσταση ισορροπίας δίνεται από την εξίσωση

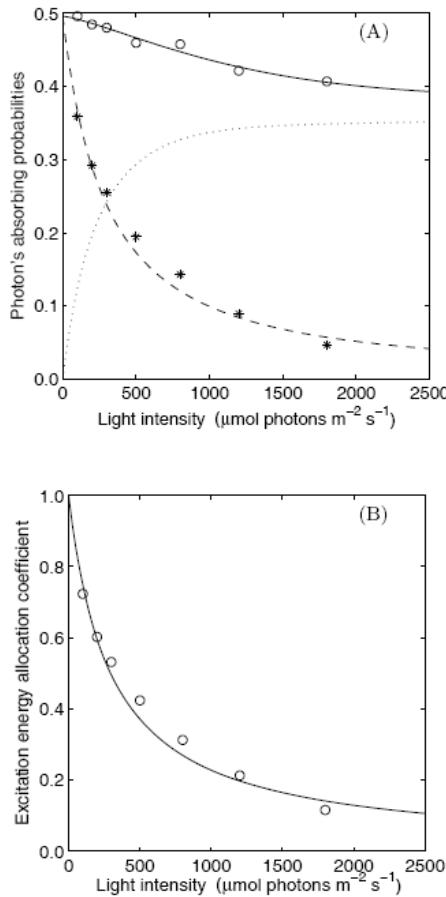
$$J_O = \frac{y_L N k_L}{\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right) \left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)}. \quad (3.12)$$

3.3 Αξιολόγηση του Μοντέλου

Στην ενότητα αυτή παρατίθεται η διαδικασία αρχικοποίησης και ελέγχου του μοντέλου με τη χρήση πειραματικών δεδομένων οξυγονομέτρησης και απαγωγικού φυσιορισμού από καλλιέργειες του μονοκύτταρου χλωροφύκους *Scenedesmus obliquus*. Το Παράρτημα περιέχει λεπτομέρειες για τα πειράματα.

Η ζεύξη μεταξύ παραμέτρων του μοντέλου και παραμέτρων του επαγωγικού φυσιορισμού.– Η δέσμευση των φωτονίων συμβαίνει όταν μια PSU είναι ανοιχτή. Επομένως, η πιθανότητα δέσμευσης των φωτονίων από μια PSU, ρ , αντιστοιχίζεται στη μέγιστη φωτονιακή απόδοση της φωτοχημείας του PS II σε συγκεκριμένη φωτεινή ένταση, F'_v/F'_m . Αντίστοιχα, η παράμετρος ρ_0 του μοντέλου αντιστοιχίζεται στη μέγιστη φωτονιακή απόδοση του PS II χυττάρων που είναι προσαρμοσμένα στο σκοτάδι, (F_v/F_m) . Η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων που σχετίζεται με τη LEF, ρ_L , αντιστοιχίζεται στη φωτονιακή απόδοση της γραμμικής ροής ηλεκτρονίων μέσω του PS II, F'_q/F'_m . Τέλος, ο συντελεστής επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης, α , αντιστοιχίζεται στο δείκτη απόδοσης του PS II, F'_q/F'_v [12]. Τα πειραματικά δεδομένα και οι προβλέψεις του μοντέλου παρατίθενται στο Σχήμα 3.3. Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα, κατά την αύξηση της φωτεινής έντασης, η μέγιστη φωτονιακή απόδοση του PS II μειώνεται σταδιακά από μια μέγιστη τιμή σε μια μη μηδενική ελάχιστη τιμή (Σχήμα 3.3A, διαφανείς κύκλοι), ενώ ο δείκτης απόδοσης του PS II μειώνεται πιο απότομα και τείνει ασυμπτωτικά στο μηδέν (Σχήμα 3.3B, διαφανείς κύκλοι). Η καλή προσαρμογή των εξισώσεων (3.5) και (3.2) του μοντέλου στα πειραματικά δεδομένα υποδηλώνει ότι η αντιστοίχηση μεταξύ των παραμέτρων του μοντέλου και των παραμέτρων του επαγωγικού φυσιορισμού είναι επιτυχής, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Χρησιμοποιώντας αυτή τη ζεύξη μοντέλου-δεδομένων κάναμε εκτίμηση των εζής παραμέτρων του μοντέλου: ρ_{min} , β , ρ και $Y_{K\zeta}$. Με αυτές τις παραμετρικές τιμές τρέξαμε το μοντέλο και πήραμε τις προβλέψεις του για τις πιθανότητες δέσμευσης φωτονίων που σχετίζονται με τη LEF και τη CEF (Σχήμα 3.3A). Το μοντέλο προβλέπει, σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα, ότι σε χαμηλή φωτεινή ένταση η ενέργεια διέγερσης επενδύεται, κυρίως, στη LEF. Καθώς η φωτεινή ένταση αυξάνεται, ο επιμερισμός της ενέργειας στη LEF μειώνεται, ενώ στη CEF αυξάνεται. Οι δύο καμπύλες τέμνονται όταν η μισή ποσότητα της ενέργειας διέγερσης κατευθύνεται στη LEF και η άλλη μισή στη CEF. Ο επιμερισμός της ενέργειας στη LEF, ρ_L , μειώνεται συνεχώς τείνοντας ασυμπτωτικά στο μηδέν, ενώ ο επιμερισμός της ενέργειας στη CEF, ρ_C , αυξάνεται συνεχώς τείνοντας στο ασυμπτωτικό μέγιστο ρ_{min} , καθώς η φωτεινή ένταση αυξάνεται.

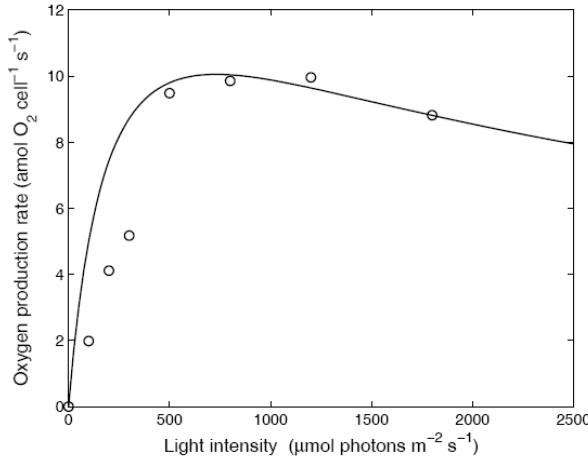
Προβλέψεις του μοντέλου και μετρήσεις του ρυθμού παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου– Η παραγωγή οξυγόνου εξαρτάται όχι μόνο από τον αριθμό των λειτουργικών φωτοσυνθετικών μονάδων αλλά και από την ποσότητα της ενέργειας διέγερσης που επενδύεται στη LEF. Οι προβλέψεις του



Σχήμα 3.3: (A) Μεταβολή της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων και της μέγιστης απόδοσης του PS II (ρ -συνεχής γραμμή και F'_v/F'_m -διαφανείς κύκλοι), μεταβολή του επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης στη LEF και της λειτουργικής απόδοσης του PS II (ρ_L -διακεκομένη γραμμή και F'_q/F'_m -αστέρια) και μεταβολή του επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης στη CEF (ρ_C -γραμμή με τελείες) συναρτήσει της φωτεινής έντασης. (B) Μεταβολή του συντελεστή επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης και δείκτη απόδοσης του PS II (α -συνεχόμενη γραμμή και F'_q/F'_v -διαφανείς κύκλοι) συναρτήσει της φωτεινής έντασης. Οι τιμές των παραμέτρων προέκυψαν από την προσαρμογή της εξίσωσης (3.5) και της εξίσωσης (3.2), αντίστοιχα, στα πειραματικά δεδομένα που πήραμε για τη μέγιστη απόδοση και για το δείκτη απόδοσης του PS II. Τιμές των παραμέτρων (και οι τυπικές αποκλίσεις τους): $\rho_{min}=0.3842$ (0.0317), $\beta=0.01$ (0.006), $p=0.314$ (0.274), $Y_K\zeta=294.5$ (20.5) $\mu\text{mol φωτονίων (mol CO}_2)^{-1}\text{m s}^{-1}$, $\rho_0=0.4959$ (τιμή που μετρήθηκε), $I_a=40 \mu\text{mol hν m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (τιμή που μετρήθηκε), $X=1\text{mM}$ (τιμή που μετρήθηκε).

μοντέλου για το ρυθμό παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου ελέγχθηκαν με τα πειραματικά δεδομένα που προέκυψαν από μετρήσεις σε κύτταρα *S. obliquus* εκτεθειμένα σε διαφορετικές τιμές φωτεινής έντασης. Στο Σχήμα 3.4 παρουσιάζονται οι προβλεπόμενοι και οι πειραματικά μετρημένοι ρυθμοί παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου σε διαφορετικές φωτεινές εντάσεις. Ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου, σύμφωνα με την πρόβλεψη του μοντέλου, αρχικά αυξάνεται, αλλά μετά από μια κρίσιμη τιμή της φωτεινής έντασης αρχίζει να μειώνεται. Η ίδια τάση εμφανίζεται και στα πειραματικά δεδομένα. Οι προσομοιώσεις του μοντέλου έγιναν με παραμετρικές τιμές που πήραμε από τη διεύθυνη βιβλιογραφία, ενώ για αυτές που δεν ήταν διαθέσιμες επιλέξαμε τιμές που έδιναν καλή προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα. Ο αριθμός των φωτονίων που απαιτούνται για να διεγείρουν

μια PSU ενόσω αυτή εξυπηρετεί τη LEF ποικίλει από 8 έως 10 [3, 63, 112, 111] ενώ αν εξυπηρετεί τη CEF οι αναφερόμενες τιμές είναι λίγο μεγαλύτερες (12-15 φωτόνια) [4, 59]. Η φωτοαπενεργοποίηση επέρχεται όταν μια PSU σε κατάσταση S_{closed}^{linear} δεσμεύσει ένα ή δύο επιπλέον φωτόνια [6]. Οι τιμές, σε mol, των n_L , n_C και n_I που χρησιμοποιήθηκαν στις προσομοιώσεις του μοντέλου είναι $1.33 \cdot 10^{-5}$ amol (αντιστοιχεί σε 8 φωτόνια), $2.0 \cdot 10^{-5}$ amol (αντιστοιχεί σε 12 φωτόνια), και $1.67 \cdot 10^{-6}$ amol (αντιστοιχεί σε ένα φωτόνιο), αντίστοιχα. Η πιθανότητα ρ_I με την οποία δεσμεύονται τα φωτόνια από μια PSU που βρίσκεται σε κατάσταση S_{closed}^{linear} είναι λ φορές μικρότερη από τη ρ_L , με το λ να πάρνει τιμές από 10^{-4} έως 10^{-7} [6, 84, 85, 176]. Ο αριθμός mol O₂ που απελευθερώνονται ανά PSU, y_L , πάρθηκε ίσος με $0.167 \cdot 10^{-5}$ amol [3]. Οι αναφερόμενες τιμές για τη σταθερά του ρυθμού επιδιόρθωσης για διαφορετικά φυτοπλαγκτονικά είδη που αναπτύσσονται σε διάφορες συνθήκες ποικίλουν από $0.7 \cdot 10^{-4}$ to $9.1 \cdot 10^{-4}$ s⁻¹ [16, 128, 178]. Για συγκεκριμένο οργανισμό, η σταθερά του ρυθμού επιδιόρθωσης είναι ανεξάρτητη της φωτεινής έντασης στην οποία αναπτύσσεται [178]. Η τιμή του N είναι της τάξης του 10^5 - 10^7 PSUs ανά κύτταρο, ανάλογα με το είδος του οργανισμού [49, 97, 178].



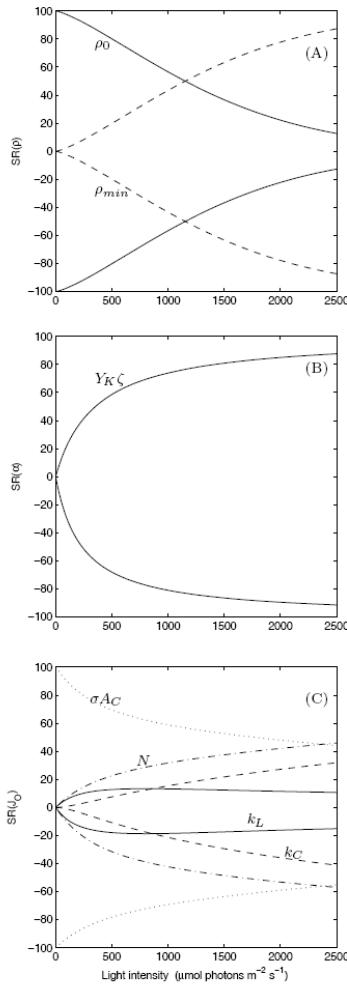
Σχήμα 3.4: Προσομοιώσεις του μοντέλου (συνεχόμενη γραμμή) και πειραματικά δεδομένα (διαφορετικοί κύκλοι) για το ρυθμό παραγωγής οξυγόνου συναρτήσει της φωτεινής έντασης. Παραμετρικές τιμές: $k_L=0.95$ s⁻¹, $k_C=1.5$ s⁻¹, $k_R=6 \cdot 10^{-4}$ s⁻¹, $N=5 \cdot 10^7$ PSUS CELL⁻¹, $\sigma A_c=1.18$ μm², $n_L=1.33 \cdot 10^{-5}$ amol φωτονίων, $n_C=2.0 \cdot 10^{-5}$ amol φωτονίων, $n_I=1.67 \cdot 10^{-6}$ amol φωτονίων, $\lambda=10^{-4}$. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές οπως στο Σχήμα 2.3.

Ευαισθησία του μοντέλου – Ελέγχαμε την ευαισθησία του μοντέλου εξετάζοντας την απόκριση του ρυθμού παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου, της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων, του επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης σε αλλαγές των παραμετρικών τιμών κατά 20%. Οι παράμετροι ρ_0 , ρ_{min} , β , p και η σύνθετη παράμετρος $Y_K\zeta$ καθορίστηκαν άμεσα από τις μετρήσεις επαγγωγικού φθορισμού, ενώ οι παράμετροι k_L , k_C , k_R , N και η σύνθετη παράμετρος σA_c , έτσι ώστε να έχουν καλή προσαρμογή οι μετρήσεις του ρυθμού παραγωγής οξυγόνου. Και οι δύο πηγές εμπεριέχουν εγγενείς αβεβαιότητες και προσπαθήσαμε να διερευνήσουμε το πώς και το πόσο μπορούν να επηρεά-

ζουν τη συμπεριφορά του μοντέλου. Η ευαισθησία των προβλέψεων του μοντέλου στις παραμέτρους διερευνήθηκε με τη χρήση της ανάλυσης τοπικής ευαισθησίας. «Τοπική» σημαίνει ότι λαμβάνονται υπόψη μόνο μικρές διαταραχές από ένα σύνολο τιμών αναφοράς των παραμέτρων. Αν συμβολίσουμε με W την ποσότητα που υπολογίζεται από το μοντέλο, η ευαισθησία της W σε μια παράμετρο d ορίζεται από το λόγο της σχετικής μεταβολής της W προς τη σχετική μεταβολή της d . Επομένως, η ευαισθησία $SR(\%)$ είναι ίση με

$$SR = 100 \times \frac{\Delta W/W}{\Delta d/d} \quad (3.13)$$

Οι ευαισθησίες αυτών των προβλέψεων του μοντέλου στις παραμετρικές τιμές (σε ένα εύρος της τάξης του 20% σε σχέση με την τιμή που χρησιμοποιήθηκε) υπολογίστηκαν για διαφορετικές φωτεινές εντάσεις και παρουσιάζονται στο Σχήμα 3.5.



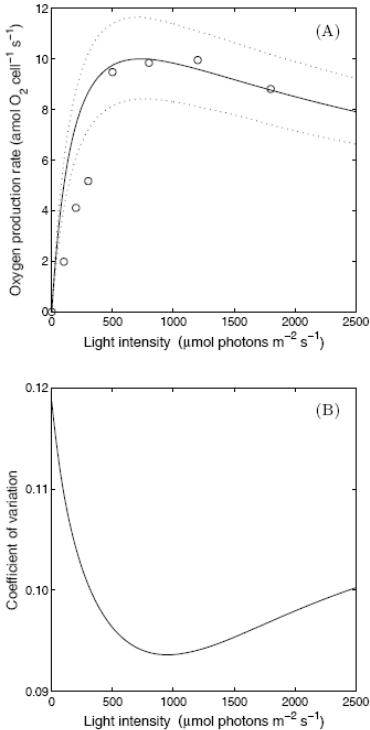
Σχήμα 3.5: Ευαισθησίες (SR): (A) της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων ρ , (B) του συντελεστή επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης α , και (C) του ρυθμού παραγωγής οξυγόνου J_O σε μεταβολές κατά 20% των τιμών των παραμέτρων του μοντέλου, για διαφορετικές φωτεινές εντάσεις.

Η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων ρ είναι ευαίσθητη στις παραμέτρους ρ_0 και ρ_{min} που αντι-

στοιχούν στις τιμές της ρ στο σκοτάδι και σε πολύ υψηλή φωτεινή ένταση. Η ευαισθησία της ρ στη ρ_0 είναι μεγαλύτερη σε χαμηλές φωτεινές εντάσεις, ενώ η ευαισθησία της στη ρ_{min} είναι μεγαλύτερη στις υψηλές φωτεινές εντάσεις. Η ευαισθησία του συντελεστή επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης α στις μεταβολές της σύνθετης παραμέτρου $Y_K\zeta$ αυξάνεται με τη φωτεινή ένταση. Η ευαισθησία στις παραμέτρους ρ_0 , ρ_{min} και $Y_K\zeta$ αντανακλάται, με μια μικρή εξασθένιση, και στο ρυθμό παραγωγής οξυγόνου. Όπως ήταν αναμενόμενο, ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου είναι πολύ ευαίσθητος στον αριθμό των PSUs N και στις παραμέτρους που αφορούν τη δέσμευση των φωτονίων σ και A_C . Όσον αφορά τους ρυθμούς επεξεργασίας, οι προβλέψεις του μοντέλου είναι πιο ευαίσθητες στους k_L και k_C , με τη ευαισθησία να αυξάνεται με τη φωτεινή ένταση, όμως η ευαισθησία στην k_L μειώνεται σε πολύ υψηλές φωτεινές εντάσεις. Οι προβλέψεις του μοντέλου είναι μη ευαίσθητες στις παραμέτρους k_I , p , και β ($SR < 10\%$, δεν παρατίθενται). Εξετάσαμε τη συνολική ευαισθησία του μοντέλου σε αυτές τις παραμέτρους δίνοντας τυχαίες μεταβολές από μια τριγωνική κατανομή σε κάθε μια από αυτές. Χρησιμοποιήσαμε την τριγωνική κατανομή επειδή έχει πεπερασμένο εύρος και απαιτεί μόνο μέγιστη, ελάχιστη και μια ενδιάμεση τιμή. Για κάθε μια από τις παραπάνω παραμέτρους πήραμε την ενδιάμεση τιμή να είναι ίση με αυτή που χρησιμοποιήσαμε στις προσομοιώσεις του μοντέλου. Η ελάχιστη και η μέγιστη τιμή είναι, αντίστοιχα, το 80% και το 120% της ενδιάμεσης τιμής. Προκαλέσαμε 1000 τυχαίες μεταβολές σε κάθε παράμετρο και για κάθε επτάδα (ρ_0 , ρ_{min} , $Y_K\zeta$, σA_C , N , k_L και k_C) των τυχαίων μεταβολών υπολογίσαμε το ρυθμό παραγωγής οξυγόνου σε συγκεκριμένη τιμή της φωτεινής έντασης. Μια προσομοίωση του μοντέλου για διαφορετικές τιμές της φωτεινής έντασης φαίνεται στο Σχήμα 3.6. Διαπιστώσαμε ότι η μεταβλητότητα του μοντέλου δεν είναι μεγάλη. Ο συντελεστής μεταβλητότητας ποικίλει μεταξύ 9% και 12% και εμφανίζει ελάχιστο σε μια ενδιάμεση φωτεινή ένταση. Αυτό σημαίνει ότι κάποιες από τις παραμέτρους παρουσιάζουν ενδιαφέρον σε χαμηλές φωτεινές εντάσεις ενώ άλλες σε υψηλές φωτεινές εντάσεις.

Ποιοτικά αποτελέσματα

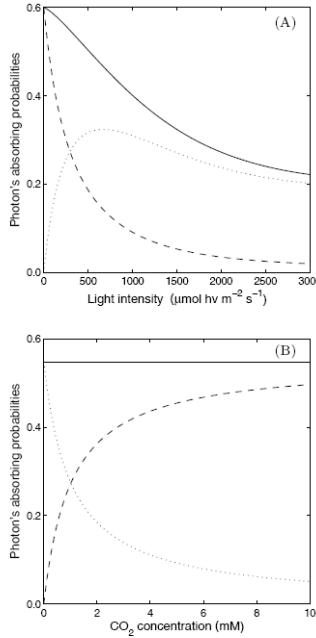
Η αξιοπιστία των σταθερών που βρέθηκαν κατά την προσαρμογή του μοντέλου είναι προφανές ότι οριοθετείται από τη μεταβλητότητα των χρησιμοποιούμενων πειραματικών δεδομένων. Παρόλα αυτά, αξίζει να κάνουμε μια ενδοσκόπηση στις ευρύτερες προσομοιώσεις του μοντέλου. Η πιθανότητα δέσμευσης των φωτονίων ρ (εξίσωση 3.5), που ποσοτικοποιεί τη μέγιστη απόδοση του PS II, μειώνεται εκθετικά από μια μέγιστη τιμή ρ_0 στο σκοτάδι και τείνει ασυμπτωτικά σε μια ελάχιστη τιμή ρ_{min} , καθώς αυξάνεται η φωτεινή ένταση. Ο ρυθμός μείωσης εξαρτάται από τη φυσιολογία και την ιστορία του κυττάρου, όπως αυτό υποδηλώνεται από τις παραμέτρους β και p . Για $p = 0$ η συνάρτηση k είναι ανεξάρτητη από το I και η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων παρουσιάζει απλή εκθετική



Σχήμα 3.6: (A) Ρυθμός παραγωγής οξυγόνου συναρτήσει της φωτεινής έντασης. Η συνεχόμενη γραμμή παρέχει τη μέση τιμή των 1000 προσομοιώσεων και οι γραμμές με τελείες παρέχουν το διάστημα εμπιστοσύνης 95%. (B) Συντελεστής μεταβλητότητας συναρτήσει της φωτεινής έντασης.

μείωση καθώς η φωτεινή ένταση αυξάνεται. Το κλάσμα α της ενέργειας διέγερσης που επενδύεται στη LEF μειώνεται καθώς η φωτεινή ένταση αυξάνεται ή/και η συγκέντρωση CO₂ μειώνεται (εξ. 3.2). Αυτή η ιδιότητα του α σε συνδυασμό με την προαναφερθείσα ιδιότητα του ρ , υποδηλώνει ότι η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων που σχετίζεται με τη LEF, ρ_L , θα μειώνεται καθώς αυξάνεται η φωτεινή ένταση. Αν και το υπόλοιπο κλάσμα, $1 - \alpha$, της ενέργειας διέγερσης που επενδύεται στη CEF αυξάνεται με τη αύξηση της φωτεινής έντασης ή/και τη μείωση της συγκέντρωσης του CO₂, η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων που σχετίζεται με τη CEF, ρ_C , αυξάνεται αρχικά, αλλά σε πολύ υψηλές φωτεινές εντάσεις μπορεί να μειώνεται λόγω της μείωσης του ρ . Στην περίπτωση που η μείωση του ρ , από το σκοτάδι (ρ_0) σε φως αναστολής (ρ_{min}), είναι απότομη, παρατηρήσαμε, με αριθμητικές προσομοιώσεις, ότι η ρ_C προσεγγίζει το ρ_{min} μη μονοτονικά (Σχήμα 3.7A). Στο Σχήμα 3.7B παρουσιάζονται οι αντίθετες επιδράσεις της συγκέντρωσης CO₂ στον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης στη LEF και στη CEF. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις CO₂ η CEF ευνοείται έναντι της LEF, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις CO₂ η ενέργεια διέγερσης επενδύεται κυρίως στη LEF. Η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων, εν πολλοίς, δεν επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα CO₂.

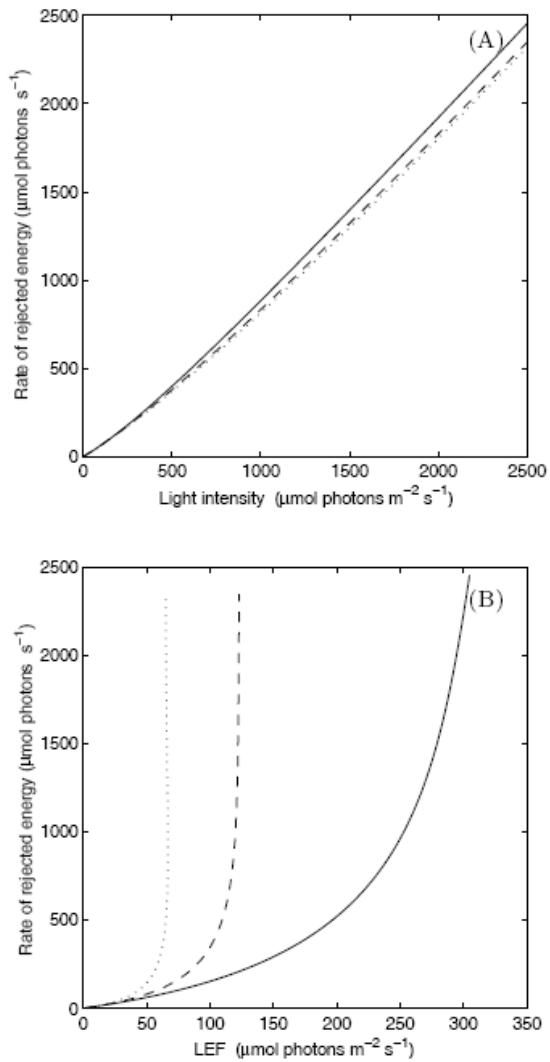
Το επιπλέον φως που δεσμεύεται από το σύμπλοκο συλλογής φωτός και δεν μπορεί να το διαχειριστεί, αποβάλλεται σαν φυσικός ή/και σαν θερμότητα. Για δεδομένη συγκέντρωση CO₂,



Σχήμα 3.7: Μεταβολές της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων (ρ -συνεχόμενη γραμμή) και της ενέργειας διέγερσης που επενδύεται στη LEF (ρ_L -διακεκομμένη γραμμή) και στη CEF (ρ_C -γραμμή με τελείες) (Α) καθώς αυξάνεται η φωτεινή ένταση σε σταθερή συγκέντρωση CO_2 ($X = 1 \text{ mM}$) και (Β) καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση CO_2 σε σταθερή φωτεινή ένταση ($I = 300 \mu\text{mol} \text{ φωτονίων } \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Παραμετρικές τιμές: $\rho_0 = 0.6$, $\rho_{min} = 0.2$, $\beta = 0.01$, $p = 0.314$, $I_a = 40 \mu\text{mol} \text{ φωτονίων } \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $Y_K \zeta = 294.5 (20.5) \mu\text{mol} \text{ φωτονίων } (\text{mol } \text{CO}_2)^{-1} \text{ m s}^{-1}$.

ο ρυθμός της απορριπτόμενης ενέργειας αυξάνεται κατά την αύξηση της φωτεινής έντασης και για δεδομένη τιμή της φωτεινής έντασης αυξάνεται επίσης καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση CO_2 (Σχήμα 3.8Α). Οι διαφορετικές συγκεντρώσεις CO_2 επηρεάζουν τον επιμερισμό της ενέργειας στη LEF και στη CEF. Δηλαδή, μειώνοντας τη συγκέντρωση CO_2 μειώνεται η τιμή κορεσμού της LEF και η φωτεινή ένταση ημικορεσμού (τα αποτελέσματα δεν παρατίθενται). Στο Σχήμα 3.8Β φαίνεται η γραφική παράσταση του ρυθμού της απορριπτόμενης ενέργειας συναρτήσει της ενέργειας διέγερσης που επενδύεται στη LEF, σε διαφορετικά επίπεδα CO_2 . Η γραφική παράσταση γίνεται πιο απότομη όταν μειώνονται τα επίπεδα CO_2 , που σημαίνει ότι η ευαισθησία της απορριπτόμενης ενέργειας έναντι της LEF είναι μεγαλύτερη σε χαμηλές συγκεντρώσεις CO_2 .

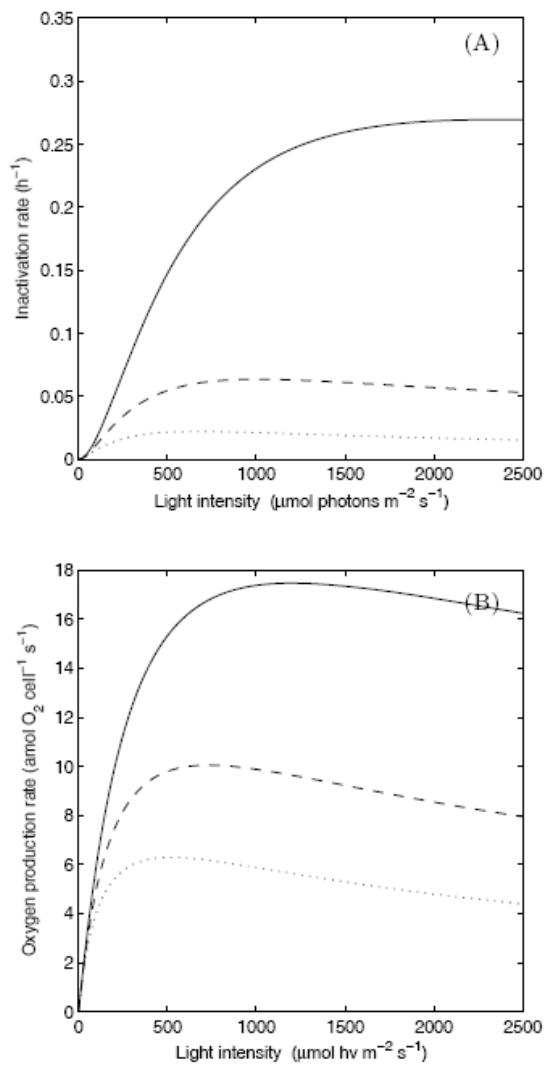
Σύμφωνα με την εξίσωση (3.11), ο ειδικός ρυθμός απενεργοποίησης k_i εξαρτάται μη γραμμικά από τη φωτεινή ένταση I . Καθώς η φωτεινή ένταση αυξάνεται, ο k_i αυξάνεται αρχικά, κάτι που είναι γενικά αποδεκτό, αλλά σε υψηλές φωτεινές εντάσεις εμφανίζει μη μονοτονική συμπεριφορά που εξαρτάται από τις τιμές των παραμέτρων. Γενικά, ο k_i προσεγγίζει μια μέγιστη τιμή σε μια ενδιάμεση τιμή της φωτεινής έντασης, πέραν της οποίας μειώνεται μέχρι μηδενισμού σε πολύ υψηλές φωτεινές εντάσεις. Η συμπεριφορά αυτή του k_i (σε πολύ υψηλές φωτεινές εντάσεις) οφείλεται στην ισχυρή αρνητική επίδραση του I στο ρ_L . Στο Σχήμα 3.9Α φαίνεται η επίδραση του επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης στην καμπύλη του k_i-I . Καθώς μειώνεται η συγκέντρωση CO_2 X , ο k_i μειώνεται. Η γραφική παράσταση του ρυθμού παραγωγής οξυγόνου συναρτήσει της φωτεινής



Σχήμα 3.8: Ο ρυθμός της απορριπτόμενης ενέργειας συναρτήσει (A) της φωτεινής έντασης και (B) της LEF, για διαφορετικές συγκεντρώσεις CO_2 : $X = 3.0\text{mM}$ (συνεχόμενη γραμμή), $X = 1.0\text{mM}$ (διακεκομένη γραμμή), $X = 0.5\text{mM}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές δόθηκαν στα Σχήματα 3 και 4.

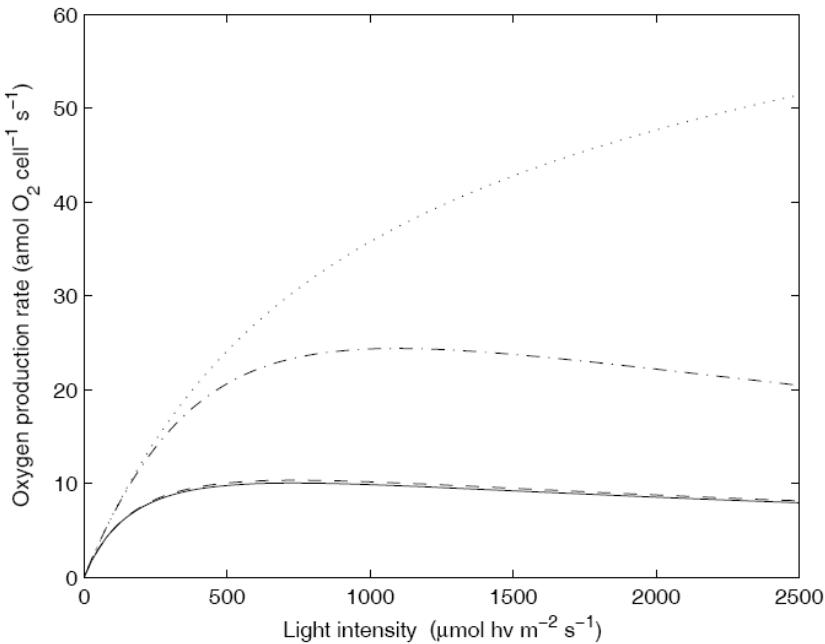
έντασης αναφέρεται συνήθως σαν καμπύλη PI, όπου το P υποδηλώνει τη φωτοσύνθεση και το I υποδηλώνει τη φωτεινή ένταση. Στο Σχήμα 3.9B παρουσιάζεται η φωτοσυνθετική απόκριση στο CO_2 . Η φωτοσυνθετική παραγωγή ενισχύεται όταν αυξάνεται η διαθεσιμότητα CO_2 .

Στο Σχήμα 3.10 παρουσιάζεται ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου συναρτήσει της φωτεινής έντασης και οι τροποποιήσεις που υφίσταται από την επένδυση της ενέργειας διέγερσης στη CEF και από τη φωτοαναστολή. Πέραν της αρχικής κλίσης, η επένδυση ενέργειας στη CEF επηρεάζει τόσο την ιδιαίτερη φωτεινή ένταση, δηλαδή τη φωτεινή ένταση πέραν της οποίας η φωτοσύνθεση μειώνεται, όσο και το μέγιστο φωτοσυνθετικό ρυθμό. Όταν εκλείψει ο προστατευτικός μηχανισμός, η φωτοαπενεργοποίηση έχει μεγάλη επίδραση στο φωτοσυνθετικό ρυθμό. Πάντως, όταν η ενέργεια διέγερσης επανεπενδύεται στη CEF, η φωτοαπενεργοποίηση έχει μικρότερη επίδραση στο



Σχήμα 3.9: (A) Η καμπύλη $k_i \cdot I$ και (B) η καμπύλη PI για διαφορετικές συγκεντρώσεις CO_2 : $X = 3.0\text{mM}$ (συνεχόμενη γραμμή), $X = 1.0\text{mM}$ (διακεκομμένη γραμμή), και $X = 0.5\text{mM}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές δόθηκαν στα Σχήματα 3 και 4

φωτοσυνθετικό ρυθμό. Αυτή η συμπεριφορά αναδεικνύει τον προστατευτικό ρόλο της CEF στο φωτοσυνθετικό μηχανισμό.



Σχήμα 3.10: Καμπύλες PI με: LEF, CEF και απενεργοποίηση (συνεχόμενη γραμμή), LEF και CEF (διακεκομένη γραμμή), LEF και απενεργοποίηση (γραμμή με παύλες και τελείες) και LEF (γραμμή με τελείες). Οι παραμετρικές τιμές δόθηκαν στα Σχήματα 3 και 4

3.4 Συζήτηση

Το κύριο επίτευγμα αυτής της μελέτης είναι η μοντελοποίηση των μηχανισμών της φωτοσύνθεσης που επηρεάζονται από την προσφορά και τη ζήτηση των απαιτούμενων και των διαθέσιμων συστατικών, και ρυθμίζουν τη φωτοσυνθετική απόδοση και τις δυναμικές των φωτοσυνθετικών μονάδων ενός φωτοσυνθετικού κυττάρου αποκρινόμενου στις αλλαγές διαθέσιμότητας φωτός και CO_2 .

Με την προσέγγιση που ακολουθήσαμε ποσοτικοποιήθηκε η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων, ο επιμερισμός της ενέργειας διέγερσης στη LEF και στη CEF, και η ρύθμιση των PSUs κατά τέτοιο τρόπο ώστε να ενσωματωθούν οι αποκρίσεις τους στις μεταβολές των περιβαλλοντικών συνθηκών. Αν και είναι ευρέως αναγνωρισμένο [17, 22, 69, 73, 77, 79, 96, 167] ότι το λειτουργικό μέγεθος της κεραίας, το οποίο συσχετίσαμε με την πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων, είναι καθοριστικό για τη δέσμευση των φωτονίων και τον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης, είναι η πρώτη φορά που αυτός ο ρόλος της κεραίας προσμετρήθηκε σε ένα μαθηματικό μοντέλο. Το μοντέλο αυτό ποσοτικοποιεί τον επιμερισμό της ενέργειας διέγερσης στη LEF και στη CEF που αποτελεί ένα ευέλικτο μηχανισμό απόκρισης στις μεταβολές φωτός και CO_2 . Ο ρόλος αυτής της ενέργειακής επένδυσης είναι η προστασία του κυττάρου από τη δέσμευση επιπλέον ενέργειας και η αποφυγή της μη διαθέσιμότητας ATP [96].

Η ενέργεια διέγερσης επιμερίζεται μεταξύ της LEF και της CEF με χριτήριο τη διαθεσιμότητα φωτός και CO₂. Σύμφωνα με τις παραδοχές του μοντέλου, η CEF ευνοείται όταν αυξάνεται η φωτεινή ένταση ή/και μειώνεται η συγκέντρωση CO₂. Αυτός ο ευέλικτος μηχανισμός έχει την δυνατότητα να αλλάζει το λόγο ATP/NADPH και να προστατεύει το φωτοσυνθετικό μηχανισμό από μη αναστρέψιμες βλάβες που του προκαλεί το ίδιο το φως [22, 96]. Επιπλέον, η μείωση του μεγέθους της λειτουργικής κεραίας, κατά την αύξηση της φωτεινής έντασης, ενισχύει παραπέρα αυτήν την προστασία [110]. Οι μηχανισμοί αυτοί περιέχουν παραμέτρους που είναι ειδοεξαρτημένοι και εξαρτώνται από τη φυσιολογία του κυττάρου. Αυτό δίνει τη δυνατότητα να ελεγχθεί το μοντέλο με πειραματικά δεδομένα προερχόμενα από διαφορετικά είδη φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών ή από κύτταρα του ίδιου οργανισμού που αναπτύσσονται σε διαφορετικές συνθήκες. Αν το σύμπλοκο συλλογής φωτός δεσμεύσει επιπλέον φωτόνια από αυτά που μπορεί να διαχειριστεί, ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός κινδυνεύει από παράπλευρες ζημιογόνες αντιδράσεις. Ο ρυθμός απόρριψης δεσμευμένης ενέργειας αποτελεί έναν άλλο ενδιαφέροντα φωτοπροστατευτικό μηχανισμό [10, 81, 125, 126]. Τα αποτέλεσματα του μοντέλου συμφωνούν με την πειραματική μαρτυρία [10, 81, 96, 135] ότι ο ρυθμός της απορριπτόμενης ενέργειας επηρεάζεται από τις αλλαγές στα επίπεδα CO₂. Ο Kramer (2004) [96] δημοσίευσε μια σειρά από μη συνεχείς σχέσεις μεταξύ της LEF και της μη φωτοχημικής απόσβεσης της ενέργειας (NPQ), παρόμοιες με αυτές που προβλέπει το μοντέλο (Σχήμα 3.8B), που προκύπτουν από το συνδυασμό δύο τάσεων: το NPQ αυξάνεται με την αύξηση της LEF, κατά την αλλαγή της φωτεινής έντασης σε σταθερή συγκέντρωση CO₂, και το NPQ ήταν πολύ πιο ευαίσθητο ως προς τη LEF στις χαμηλές συγκεντρώσεις CO₂.

Ο επαγωγικός φυλορισμός είναι ένα επιμέρους φαινόμενο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον επειδή σχετίζεται με το μηχανισμό ρύθμισης της φωτοσύνθεσης [150] και δεν είχε μοντελοποιηθεί μηχανιστικά στο παρελθόν. Σύμφωνα με τις πειραματικές παρατηρήσεις, ο επαγωγικός φυλορισμός είναι ανάλογος της φωτεινής έντασης [150]. Το παρόν μοντέλο προβλέπει ότι ο επαγωγικός φυλορισμός αυξάνει με την αύξηση της φωτεινής έντασης (Σχήμα 3.8A). Η αύξηση αυτή μοιάζει να είναι γραμμική, τουλάχιστον για μικρές μεταβολές της φωτεινής έντασης, όμως δεν είναι ακριβώς γραμμική λόγω της αληλεπίδρασης διαφορετικών παραγόντων (Εξίσωση 3.10) των οποίων οι επιδράσεις δεν έχουν την ίδια ισχύ σε όλες τις φωτεινές εντάσεις.

Οι παραδοχές του μοντέλου για τη ρύθμιση της πιθανότητας δέσμευσης των φωτονίων και του επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης στη LEF και στη CEF, σε μεταβαλλόμενες συνθήκες ανάπτυξης, σε συνδυασμό με την παραδοχή ότι η φωτοαπενεργοποίηση συμβαίνει όταν μια κλειστή PSU, που εξυπηρετεί τη LEF, δεσμεύσει επιπλέον φωτόνια οδηγούν σε ένα συντελεστή του ρυθμού φωτοαπενεργοποίησης (k_i) που εξαρτάται μη γραμμικά από τη φωτεινή ένταση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του μοντέλου, κατά την αύξηση της φωτεινής έντασης, ο k_i αυξάνεται αρχικά, αργά ή γρήγορα ανά-

λογα με τις συνθήκες, αλλά μειώνεται σε πολύ υψηλές φωτεινές εντάσεις. Αυτή η μείωση οφείλεται στη κυριαρχία του προστατευτικού ρόλου της φωτοσυλλεκτικής κεραίας. Η αύξηση του k_i κατά την αύξηση, σε φυσιολογικά πλαίσια, της φωτεινής έντασης είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες [16, 99, 176]. Το εύρος των τιμών του k_i είναι παρόμοιο με αυτό που παρατηρήθηκε σε φύλλα *Capsicum annuum* [99] και *Cucurbita pepo*, και σε κύτταρα *Dunaliella salina* [16]. Αριθμητικές προσομοιώσεις του μοντέλου δείχνουν ότι, σε φυσιολογικές φωτεινές εντάσεις, ο k_i αυξάνεται κατά την αύξηση της συγκέντρωσης CO_2 . Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις CO_2 δεν μπορούν να καλυφθούν οι απαιτήσεις του κύκλου Calvin-Benson μόνο από τη διάχυση του CO_2 , επομένως ένα μεγάλο ποσό της ενέργειας διέγερσης δεν οδηγείται στη LEF αλλά στη CEF, προκειμένου να παραχθεί το επιπλέον ATP που απαιτείται για τη λειτουργία των μηχανισμών συγκέντρωσης CO_2 . Από την άλλη μεριά, η υψηλή συγκέντρωση CO_2 αυξάνει το ρίσκο της φωτοαπενεργοποίησης των λειτουργικών PSUS γιατί επενδύεται μεγαλύτερο ποσό δεσμευμένης ενέργειας στη LEF.

Αυτό προκαλεί αύξηση των φωτοσυνθετικών ρυθμών αλλά και του ρίσκου για φωτοαπενεργοποίηση. Η αύξηση των φωτοσυνθετικών ρυθμών κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του CO_2 έχει παρατηρηθεί και πειραματικά [100]. Το μοντέλο προβλέπει, σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα, ότι κατά την αύξηση της φωτεινής έντασης, ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου αυξάνεται αρχικά αλλά μετά από μια κρίσιμη τιμή της φωτεινής έντασης αρχίζει να μειώνεται. Το φαινόμενο, γνωστό με τον όρο «φωτοαναστολή» [88], είναι το αποτέλεσμα της συνδυασμένης λειτουργίας συνεργατικών και ανταγωνιστικών μηχανισμών [73, 77]. Οι μηχανισμοί αυτοί δρουν κάτω από οποιαδήποτε φωτεινή ένταση, αλλά η επίδρασή τους στη φωτοσύνθεση εξαρτάται από τις συνθήκες ανάπτυξης του κυττάρου [78, 79].

Στην παρούσα μελέτη εστιάσαμε στις διαδικασίες της φωτοαπενεργοποίησης και της επιδιόρθωσης των PSUS. Η ποσοτικοποίηση της λειτουργικής κεραίας και του επιμερισμού της, που επετεύχθη στην παρούσα μελέτη, σε συνδυασμό με την ποσοτικοποίηση της διαδικασίας ανθρακοενσωμάτωσης [132] μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση του λόγου ATP/NADPH και των μηχανισμών συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα σε μεταβαλλόμενες συνθήκες CO_2 . Η δυναμική μοντελοποίηση του επιμερισμού της ενέργειας διέγερσης και της διαδικασίας ανθρακοενσωμάτωσης μας δίνει τη δυνατότητα να χειριστούμε προβλήματα που σχετίζονται με τη ρύπανση που προκαλεί το CO_2 και προκλήσεις που σχετίζονται με τη φωτοσυνθετική παραγωγή υδατανθράκων και πετρελαίου. Το μοντέλο που αναπτύχθηκε μπορεί να εφαρμοστεί σε διαφορετικά είδη φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών γιατί διαθέτουν παρόμοιους μηχανισμούς δέσμευσης της φωτός και ύρεπτικών συστατικών και παρόμοια μονοπάτια μεταφοράς της δεσμευμένης ενέργειας.

3.5 Παράρτημα: το πείραμα

Συνθήκες ανάπτυξης του μικροφύκους— Οι καλλιέργειες του μονοκύτταρου χλωροφύκους *S. obliquus*, άγριος τύπος του στελέχους D3 [55], αναπτύχθηκαν φωτοαυτοτροφικά σε υγρές καλλιέργειες [21] που είχαν τοποθετηθεί σε λουτρό νερού σταθερής θερμοκρασίας $30^\circ C$ και μπροστά από ένα σετ λευκών λαμπτήρων φλορισμού (φωτεινή ένταση $40 \mu mol m^{-2} s^{-1}$, L-40W, Osram, Munich, Germany). Οι καλλιέργειες τροφοδοτούνταν συνεχώς με αέρα από το κάτω μέρος για να διατηρείται η διαθεσιμότητα CO_2 και για να αποφευχθεί η καθίζηση των κυττάρων.

Μετρήσεις παραμέτρων του επαγωγικού φλορισμού και υπολογισμοί – Για τις μετρήσεις του επαγωγικού φλορισμού χρησιμοποιήθηκε ένα φλοροφωτόμετρο Handy-PEA (Hansatech Instruments, Kings's Lynn, Norfolk, UK). Η μέθοδος αυτή βασίζεται σε μετρήσεις της γρήγορης μετάβασης φλορισμού με μέγιστη ανάλυση μις στο χρονικό διάστημα από 40 μις μέχρι 1 s. Ο φλορισμός δειγμάτων όγκου 0.5 ml της καλλιέργειας μετρήθηκε με ανάλυση 12 bit και διεγέρθηκε από έξι φωτοδιόδους που παρείχαν κόκκινο φως (650 nm) έντασης $3000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$. Κατά τη μέτρηση επαγωγικού φλορισμού του προσαρμοσμένου στο σκοτάδι δείγματος, το δείγμα ακτινοβολούνταν με ακτινικό φως έντασης 100, 200, 300, 500, 800, 1200 ή $1800 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ για 10 min με τη χρήση Handy-PEA πολλαπλών εκλύσεων και με ένα παλμό κορεσμού φωτεινής έντασης $3000 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ (κάθε 60 s) για τον καθορισμό του F'_m . Στη συνέχεια έσβηνε ο συνεχής φωτισμός και μετά από πέντε λεπτά προσαρμογής στο σκοτάδι εφαρμόζονταν ένας παλμός κορεσμού. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει δυναμικές μετρήσεις του φωτοσυνθετικού δείγματος σε δεδομένη κατάσταση φυσιολογίας. Ο ελάχιστος επαγωγικός φλορισμός, F_0 , και ο μέγιστος, F_m , κυττάρων που είναι προσαρμοσμένα στο σκοτάδι, ο μέγιστος επαγωγικός φλορισμός F'_m , και ο επαγωγικός φλορισμός F' , κυττάρων προσαρμοσμένων στο φως, χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστούν ο μεταβλητός φλορισμός $F_v = F_m - F_0$, και η μέγιστη φωτονιακή απόδοση της φωτοχημείας του PS II F_v/F_m [12] των προσαρμοσμένων στο σκοτάδι κυττάρων. Ο ελάχιστος επαγωγικός φλορισμός $F'_0 = 1/(1/F_0 - 1/F_m + 1/F'_m)$ [12], ο μεταβαλλόμενος φλορισμός $F'_v = F'_m - F'_0$, η μέγιστη απόδοση του PS II F'_v/F'_m , η διαφορά επαγωγικού φλορισμού $F'_q = F'_m - F'$, η λειτουργική απόδοση του PS II F'_q/F'_m , και ο δείκτης απόδοσης του PS II F'_q/F'_v , φωτοπροσαρμοσμένων κυττάρων. Ο ρυθμός παραγωγής φωτοσυνθετικού οξυγόνου – Οι ρυθμοί της φωτοσύνθεσης και της αναπνοής καθορίστηκαν πολαρογραφικά στους $30^\circ C$ με ένα ηλεκτρόδιο τύπου Clark (Hansatech Instruments). Το ακτινικό φως των 100, 200, 300, 500, 800, 1200 ή $1800 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ παράγονταν από δύο λάμπες (ENX260W/82V) και μετρούνταν με ένα ευαίσθητο φωτόμετρο (International Light, Newburyport, MA, 01950). Το υπέρυθρο φάσμα της ακτινοβολίας φιλτράρονταν από διάλυμα 2% $CuSO_4$ πάχους 2 cm. Πριν από τις μετρήσεις το διάλυμα των κυττάρων ρυθμίζονταν να έχει συγκέντρωση $10 \mu lPCV/ml$.

Κεφάλαιο 4

Πληθυσμιακό μοντέλο των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στη στήλη του νερού

Περίληψη

Σε αυτό το κεφάλαιο αναπτύσσεται ένα δυναμικό πληθυσμιακό μοντέλο για την ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στη στήλη του νερού. Τα φωτοσυνθετικά κύτταρα ανταγωνίζονται το φως που έρχεται από την επιφάνεια και μειώνεται με το βάθος της στήλης του νερού και το διοξείδιο του άνθρακα που είναι διαλυμένο στο νερό. Η ποσοτικοποίηση της μείωσης της φωτεινής έντασης, με την αύξηση του βάθους, στη στήλη του νερού λόγω της απορρόφησης του φωτός από το καθαρό νερό και λόγω του αυτοσκιασμού γίνεται με το νόμο Lambert-Beer. Η αρχική συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα θεωρήθηκε ίδια σε όλη τη στήλη του νερού λόγω του μικρού της βάθους ($< 100m$). Το μοντέλο βασίζεται στο ατομικό μοντέλο της φωτοσύνθεσης που αναπτύχθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο και στο ατομικό μοντέλο ανάπτυξης των μικροοργανισμών της θεωρίας δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου (θεωρία DEB). Ξεκινώντας με μια αρχική κατανομή κυττάρων που είναι ομοιόμορφη στη στήλη του νερού παρατηρούμε μια προοδευτική στρωματοποίηση της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού με το πέρασμα του χρόνου. Η βιομάζα των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών είναι κατανεμημένη ανομοιογενώς στη στήλη του νερού όταν η ανάμεική της δεν είναι βίαιη. Το κυρίαρχο πρότυπο στην κατανομή της βιομάζας είναι: πολύ μικρή συγκέντρωση βιομάζας πάρα πολύ κοντά στην επιφάνεια του νερού και σε μεγάλα βάθη της στήλης νερού, ενώ οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται σε ενδιάμεσα βάθη. Το μέγιστο της κατανομής παρατηρείται σε συγκεκριμένο βάθος που εξαρτάται από το είδος του φωτοσυνθετικού μικροοργανισμού, από τη φωτεινή ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, από το βαθμό αυτοσκιασμού των ζωντανών φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών, από τη διαθεσιμότητα ανόργανου άνθρακα και από τη χρονική στιγμή που γίνεται η μέτρηση της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας. Το μέγιστο της

κατανομής αναδύεται προς τα ανώτερα στρώματα του νερού με το πέρασμα του χρόνου. Το πρότυπο που παρατηρείται στην κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού προκύπτει από τον ενδοειδικό ανταγωνισμό των κυττάρων για φως και ανόργανο άνθρακα, και από τις διαφορετικές προσαρμογές του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των κυττάρων που βρίσκονται στα διαφορετικά επίπεδα της στήλης του νερού. Εξελικτικά, η πλέον ευσταθής στρατηγική ευνοείται από το βάθος στο οποίο το φως και ο ανόργανος άνθρακας είναι εξίσου περιοριστικά για την ανάπτυξη των κυττάρων στη στήλη του νερού. Αυτό το βάθος μεγαλώνει, λόγω φωτοαναστολής στα υπερκείμενα στρώματα, όταν αυξάνεται η φωτεινή ένταση και μειώνεται όταν αυξάνεται ο βαθμός αυτοσκιασμού των υπερκείμενων φωτοσυνθετικών κυττάρων. Η αλλαγή της συγκέντρωσής του διοξειδίου του άνθρακα στη στήλη του νερού (ανάλογο με την αλλαγή της συγκέντρωσης του στους ωκεανούς τους τελευταίους αιώνες) δίνει, σύμφωνα με το μοντέλο, μέγιστα κατανομής φυτοπλαγκτονικής βιομάζας σε μεγαλύτερα βάθη αλλά μικρότερα σε μέγεθος.

4.1 Εισαγωγή

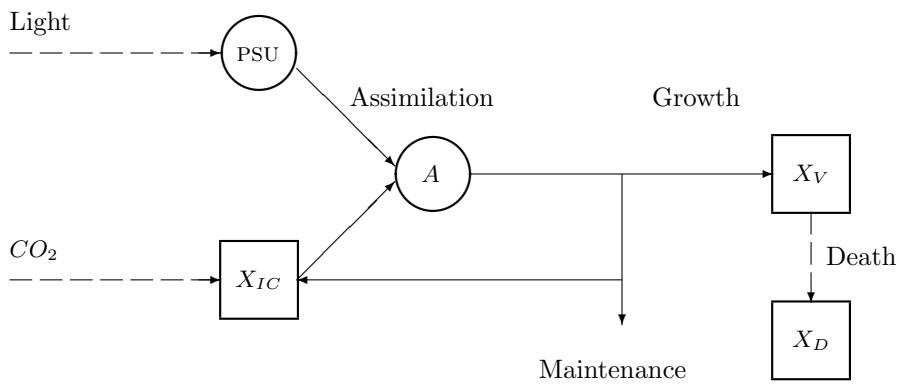
Η κατακόρυφη κατανομή της βιομάζας του φυτοπλαγκτού στις λίμνες και τη θάλασσα είναι εξαιρετικά ανομοιογενής [64, 68, 87, 182]. Είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον το γεγονός ότι το 90% της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας είναι συγκεντρωμένο σε ένα σχετικά λεπτό στρώμα της στήλης του νερού [58, 87]. Η ανομοιογενής κατακόρυφη κατανομή του φυτοπλαγκτού παρατηρείται συνήθως σε συνθήκες ασθενούς ανάμειξης του νερού [87]. Πάντως, η ασθενής ανάμειξη από μόνη της, δεν είναι ικανή να παράξει τα παρατηρούμενα πρότυπα στην κατακόρυφη κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας. Απεναντίας, η διαβάθμιση της φωτεινής ακτινοβολίας και των θρεπτικών θεωρείται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτή την κατανομή [37]. Επίσης, διαφορετικά είδη φυτοπλαγκτονικών οργανισμών σχηματίζουν διαφορετικές κατακόρυφες κατανομές βιομάζας [87]. Ενδιαφέρον όμως παρουσιάζει και η κατακόρυφη κατανομή της χλωροφύλλης α στη στήλη του νερού. Οι περισσότερες κατανομές χλωροφύλλης μπορούν να εξηγηθούν από την προσαρμογή των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στις επικρατούσες συνθήκες [37], όταν δεν υπάρχει θήρευση των μικροοργανισμών. Οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια, όπου η φωτεινή ένταση είναι υψηλή και οι συγκεντρώσεις θρεπτικών χαμηλές, έχουν μικρή ποσότητα χλωροφύλλης [37]. Στα μεγάλα βάθη, η ελαττωμένη φωτεινή ένταση και η αυξημένη διαθεσιμότητα θρεπτικών διεγείρουν την αύξηση της χλωροφύλλης σε σχέση με τη φυτοπλαγκτονική βιομάζα [37]. Αυτός είναι και ο λόγος που τα μέγιστα στην κατακόρυφη κατανομή χλωροφύλλης στη στήλη του νερού παρατηρούνται σε μεγαλύτερο βάθος σε σχέση με τα μέγιστα της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας [37].

Τα υπάρχοντα δυναμικά μαθηματικά μοντέλα δεν λαμβάνουν υπόψη τους αυτή την προσαρμοστικότητα των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών και ποσοτικοποιούν την κατακόρυφη κατανομή του φυτοπλαγκτού λαμβάνοντας υπόψη τους μόνο την μείωση της φωτεινής ακτινοβολίας λόγω αυτοσκιασμού και φυσικής απορρόφησης κάνοντας λόγο για κρίσιμο βάθος που εξαρτάται μόνο από το φως και το είδος του οργανισμού [72, 74, 87, 164, 172, 173].

4.2 Το πληθυσμιακό μοντέλο

Το πληθυσμιακό μοντέλο των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών που αναπτύσσεται παρακάτω δομήθηκε στη στήλη του νερού. Η δόμηση του μοντέλου έγινε με βάση το ατομικό μοντέλο της προσαρμογής των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών και το ατομικό μοντέλο ανάπτυξης των μικροοργανισμών της θεωρίας DEB. Η θεωρία DEB μοντελοποιεί τις μεταβολικές διαδικασίες βασισμένη στους φυσιολογικούς κανόνες που διέπουν την πρόσληψη και χρήση της ενέργειας και των θρεπτικών [91]. Για τη δόμηση του μοντέλου χρησιμοποιήθηκαν, μία μεταβλητή κατάστασης για το φωτοσυνθετικό μικροοργανισμό (η πυνότητα της βιομάζας του X_V), δύο μεταβλητές κατάστασης

για το περιβάλλον του (η πυκνότητα του ανόργανου διαλυμένου άνθρακα X_{IC} και των τριμάτων των πεθαμένων μικροοργανισμών X_D) και μία περιβαλλοντική μεταβλητή (τη φωτεινή ένταση I). Υποθέτουμε ότι η ανάπτυξη των μικροοργανισμών δεν περιορίζεται από τη διαθεσιμότητα άλλων θρεπτικών συστατικών, όπως ο φώσφορος ή το άζωτο. Το μοντέλο λαμβάνει υπόψη του τόσο τη φωτοαναστολή που προκαλείται από τις πολύ υψηλές φωτεινές εντάσεις όσο και τον αυτοσκιασμό που προκαλείται από τα υπερχείμενα στρώματα της στήλης του νερού στους μικροοργανισμούς των υποκείμενων στρωμάτων της.



Σχήμα 4.1: Διάγραμμα των μεταβολικών διεργασιών που ποσοτικοποιήθηκαν. Οι κύκλοι παριστάνουν τις συνθετικές μονάδες, τα τετράγωνα παριστάνουν τις συγκεντρώσεις των συστατικών και τα βέλη δείχνουν τις ροές μετασχηματισμού. Ο οργανισμός έχει μια μεταβλητή κατάστασης για τη βιομάζα X_V και το περιβάλλον έχει δύο μεταβλητές κατάστασης το διαλυμένο ανόργανο άνθρακα X_{IC} και τη φωτεινή ένταση I . Ο ανόργανος διαλυμένος άνθρακας καταναλώνεται στον κύκλο Calvin-Benson και παράγεται κατά τη διατήρηση. Ο μικροοργανισμός παράγει βιομάζα μέσω της φωτοαυτοτροφικής αφομοιώσης A (δέσμευση φωτεινής ενέργειας, που μετασχηματίζεται στις φωτοσύνθετικές μονάδες (PSUs) σε NADPH, και διαλυμένου ανόργανου άνθρακα). Οι πεθαμένοι μικροοργανισμοί μετατρέπονται σε τρίματα X_D .

Στο Σχήμα 4.1 παρουσιάζονται οι μεταβολικές διεργασίες και οι αντίστοιχες ροές ενέργειας και θρεπτικών που ποσοτικοποιήθηκαν, και στον Πίνακα 4.1 παρατίθενται οι μεταβλητές και οι παράμετροι του μοντέλου. Ο ανόργανος άνθρακας, το φως και το NADPH (προϊόν των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης) παίρνουν μέρος σε πέντε μετασχηματισμούς: τη δέσμευση της φωτεινής ενέργειας στις φωτοσύνθετικές μονάδες (PSU) για να παραχθεί NADPH, την αφομοίωση (*Assimilation*), την ανάπτυξη (*Growth*), τη διατήρηση (*Maintenance*) και το θάνατο (*Death*) των φωτοσύνθετικών μικροοργανισμών. Οι παρακάτω διαφορικές εξισώσεις δίνουν του ρυθμούς μεταβολής των τριών μεταβλητών κατάστασης του μοντέλου.

$$\frac{d}{dt}X_{IC} = (-j_{C,A} + j_{C,M})X_V \quad (4.1)$$

$$\frac{d}{dt}X_V = (j_{V,G} - j_{V,H})X_V \quad (4.2)$$

$$\frac{d}{dt}X_D = j_{V,H}X_V \quad (4.3)$$

Πίνακας 4.1: Μεταβλητές και παράμετροι του μοντέλου.

| Σύμβολο | Σημασία | Μονάδα μέτρησης |
|--------------------------------|--|--|
| z | Βάθος της στήλης του νερού | m |
| I | Φωτεινή ένταση στο βάθος z τη χρονική στιγμή t | $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ |
| X_{IC} | Συγκέντρωση ανόργανου άνθρακα | μM |
| X_V | Συγκέντρωση βιομάζας | μM |
| X_D | Συγκέντρωση τρημάτων | μM |
| $\rho, \rho_L, \rho_C, \rho_I$ | Πιθανότητες δέσμευσης φωτονίων | — |
| n_L, n_C | Ποσότητα των απαιτούμενων φωτονίων για τη διέγερση μιας PSU που εξυπηρετεί τη LEF, — τη CEF | mol photons |
| n_I | Ποσότητα των απαιτούμενων φωτονίων για την απενεργοποίηση μιας PSU | mol photons |
| I_a, I_0 | Φωτεινή ένταση ανάπτυξης του κυττάρου, —στην επιφάνεια του νερού | $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ |
| a_T | Συντελεστής απορρόφησης του φωτός από το νερό | m^{-1} |
| b_V, b_D | Συντελεστές απορρόφησης του φωτός από τη βιομάζα, — από τα τρίματα | $\text{m}^2 \text{ mol}^{-1}$ |
| k_V | Συντελεστής διάχυσης | $\text{m}^2 \text{ d}^{-1}$ |
| k_L, k_C | Ρυθμός επεξεργασίας της LEF, —CEF | s^{-1} |
| k_R | Ρυθμός επιδιόρθωσης των απενεργοποιημένων PSUs | s^{-1} |
| N | Συνολικός αριθμός των PSUs του κυττάρου | — |
| n_V | Συντελεστής μετατροπής ανά βιομάζα | cells $(\mu\text{mol V})^{-1}$ |
| j_{LL}, j_{LC}, j_{LI} | Ειδικός ρυθμός δέσμευσης των φωτονίων που επενδύονται στη LEF, —στη CEF, —στην απενεργοποίηση των PSUs | s^{-1} |
| j_N | Ειδικός ρυθμός παραγωγής NADPH | mol NADPH (mol photons) $^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| ρ_N | Πιθανότητα δέσμευσης NADPH | — |
| $y_{N,L}$ | Ποσότητα παραγώμενου NADPH ανά PSU | mol NADPH (PSU) $^{-1}$ |
| j_{IC} | Ειδικός ρυθμός τροφοληψίας ανόργανου C | $\text{mmol C } (\mu\text{mol V})^{-1} \text{ d}^{-1}$ |
| ρ_{IC} | Πιθανότητα δέσμευσης ανόργανου C | — |
| a_{IC} | Ρυθμός άντλησης ανόργανου C | $\text{L } (\mu\text{mol V})^{-1} \text{ d}^{-1}$ |
| k_A | Ρυθμός επεξεργασίας αφομοίωσης | d^{-1} |
| $j_{V,M}$ | Ειδικός ρυθμός διατήρησης | d^{-1} |
| k_M | Συντελεστής του ρυθμού αφομοίωσης | d^{-1} |
| y^0, y^A | Βασικό κόστος ανάπτυξης, κόστος αφομοίωσης | — |
| $j_{V,G}$ | Ειδικός ρυθμός ανάπτυξης | d^{-1} |
| $j_{V,H}$ | Ειδικός ρυθμός υνησιμότητας | d^{-1} |
| h | Ρυθμός υνησιμότητας | d^{-1} |

4.2.1 Αφομοίωση

Οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί διαθέτουν ένα ικανότατο μηχανισμό, το φωτοσυνθετικό, για να δεσμεύουν τη φωτεινή ενέργεια και να τη μετασχηματίζουν σε χημική ενέργεια. Ο μηχανισμός

αυτός οργανώνεται σε φωτοσυνθετικές μονάδες (PSUS) που παράγουν, εκτός των άλλων, το NADPH με το οποίο τροφοδοτείται ο κύκλος Calvin-Benson για να ενσωματώσει τον ανόργανο άνθρακα και να τον μετασχηματίσει σε οργανικό άνθρακα, βλέπε Κεφάλαιο 2. Σύμφωνα με το μοντέλο της προσαρμογής των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών στις μεταβαλλόμενες συνθήκες φωτός και διοξειδίου του άνθρακα [133] ο ειδικός (ανά μονάδα βιομάζας) ρυθμός παραγωγής NADPH ισούται με:

$$j_N = \frac{y_{N,L} N n_V k_L}{\left(\frac{j_{LI} + k_L}{j_{LL}}\right)(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}) + (1 + \frac{j_{LI}}{k_R})} \quad (4.4)$$

όπου, $y_{N,L}$ είναι η ποσότητα NADPH που παράγεται σε κάθε κύκλο λειτουργίας της PSU, N ο αριθμός των PSUS του κυττάρου, n_V ο συντελεστής μετατροπής ανά βιομάζα, k_L και k_C , οι ρυθμοί λειτουργίας μιας PSU που εξυπηρετεί τη γραμμική και την κυκλική ροή ηλεκτρονίων αντίστοιχα, k_R ο ρυθμός επιδιόρθωσης των απενεργοποιημένων PSUS, j_{LL} και j_{LC} οι ειδικοί ρυθμοί δέσμευσης φωτονίων που επενδύονται στη γραμμική και στην κυκλική ροή ηλεκτρονίων αντίστοιχα και j_{LI} ο ειδικός ρυθμός δέσμευσης φωτονίων που προκαλούν την απενεργοποίηση των PSUS. Το NADPH που παράγεται κατά τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης τροφοδοτεί τον κύκλο Calvin-Benson. Για τη λειτουργία του κύκλου απαιτείται η παράλληλη δέσμευση ανόργανου άνθρακα που προσέρχεται με ειδικό, ως προς τη βιομάζα, ρυθμό $j_{IC} = a_{IC} X_{IC}$ [91, 132, 101], όπου a_{IC} είναι ο ειδικός ρυθμός άφιξης ανόργανου άνθρακα στον κύκλο Calvin-Benson.

Αν ρ_{IC} και ρ_N είναι οι πιθανότητες δέσμευσης ανόργανου άνθρακα και NADPH αντίστοιχα και k_A είναι ο ρυθμός επεξεργασίας τους, τότε ο ειδικός ρυθμός αφομοίωσης δίνεται από την εξίσωση:

$$j_A = \frac{y_{V,A}}{k_A^{-1} + (\rho_{IC} j_{C,A})^{-1} + (\rho_N j_N)^{-1} - (\rho_{IC} j_{C,A} + \rho_N j_N)^{-1}} \quad (4.5)$$

$y_{V,A}$ είναι ο ειδικός στοιχειμετρικός συντελεστής του προϊόντος της αφομοίωσης.

Η μειωμένη φωτεινή ένταση σε σχέση με τη συγκέντρωση του διοξειδίου του άνθρακα, με το βάθος της στήλης του νερού, επηρεάζει το ρυθμό αφομοίωσης των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών δεδομένου ότι είναι φωτοσυνθετικοί. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να εμφανίζονται επίπεδα διαφορετικής πυκνότητας κατά μήκος της στήλης του νερού και μεταφορά βιομάζας, λόγω κατακόρυφης διάχυσης, μεταξύ των διαδοχικών επιπέδων. Η εξίσωση που ποσοτικοποιεί την αλλαγή της πυκνότητας των συστατικών της στήλης του νερού, λόγω διάχυσης είναι η εξής

$$\frac{\partial \mathbf{X}}{\partial t}(z, t) = \mathbf{F} + K_V \frac{\partial^2}{\partial z^2} \mathbf{X}(z, t) \quad (4.6)$$

όπου, z είναι το βάθος της στήλης του νερού, \mathbf{F} είναι ένα διάνυσμα που περιέχει το δεξιό μέλος των εξισώσεων (4.1) - (4.3) και K_V είναι ο συντελεστής κατακόρυφης ανάμειξης που υπερείται ίδιος για όλα τα συστατικά και σε όλη τη στήλη του νερού. Σύμφωνα με τις συνοριακές συνθήκες Neumann δεν υπάρχει ροή συστατικών προς την ατμόσφαιρα ($z = 0$) και τον πυθμένα της στήλης του νερού ($z = z_b$), δηλαδή:

$$\frac{\partial \mathbf{X}}{\partial z}(z, t) = 0 \quad \text{για } z = z_b, 0 \quad (4.7)$$

Το διάνυσμα $\mathbf{X}(z, t)$ παριστάνει τις πυκνότητες των συστατικών X_{IC} (ανόργανος άνθρακας), X_V (βιομάζα φυτοπλαγκτού), X_D (τρίματα), σε βάθος z τη χρονική στιγμή t . Το βάθος z παίρνει τιμές από μηδέν έως το μέγιστο βάθος της στήλης z_b . Κατά μήκος της στήλης του νερού είναι δυνατή η μεταφορά βιομάζας και θρεπτικών, αλλά η στήλη σαν ολότητα είναι απομονωμένη όσον αφορά τις ανταλλαγές μάζας με το περιβάλλον της, δηλαδή την ατμόσφαιρα και τον πυθμένα. Επομένως, η συνολική ποσότητα του άνθρακα X_{C+} στη στήλη του νερού είναι σταθερή και προκύπτει με ολοκλήρωση σε όλη τη στήλη του νερού του αθροίσματος των ποσών άνθρακα στα τρία επιμέρους συστατικά της, δηλαδή,

$$X_{C+} = \int_0^z (X_{IC}(z, t) + X_D(z, t) + X_V(z, t)) dz \quad (4.8)$$

Για την αρχική κατανομή του άνθρακα στη στήλη του νερού υπερήσαμε ότι: δεν υπάρχουν τρίματα, η φυτοπλαγκτονική βιομάζα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένη [30] και η κατανομή του ανόργανου άνθρακα είναι ομοιόμορφη στη στήλη του νερού [42].

Στη δόμηση του μοντέλου λαμβάνεται υπόψη η μείωση της φωτεινής έντασης, με το βάθος της στήλης του νερού, λόγω της απορρόφησης της φωτεινής ακτινοβολίας από το νερό και λόγω του αυτοσκιασμού που προκαλούν οι ζωντανοί μικροοργανισμοί και τα τρίματα των πεθαμένων μικροοργανισμών που περιέχονται στα υπερκείμενα στρώματα του νερού. Η στήλη του νερού είναι ανοιχτή στην ενέργεια. Το φως που φτάνει στην επιφάνειά της στήλης εισχωρεί στο εσωτερικό της και απορροφάται από τη βιομάζα του φυτοπλαγκτού και τα τρίματα του (Αυτοσκιασμός) καθώς και από το ίδιο το θαλασσινό νερό. Σύμφωνα με το νόμο Lambert-Beer η απορρόφηση του φωτός είναι ανάλογη με την πυκνότητα της βιομάζας, ανάλογη με την πυκνότητα των τριμάτων και εξαρτάται από τη θολερότητα του νερού. Επομένως, η μεταβολή της φωτεινής έντασης I στη στήλη του νερού δίνεται από την εξίσωση:

$$\frac{dI}{dz} = -(a_T + \beta_V X_V + \beta_D X_D)I \quad (4.9)$$

όπου, a_T είναι ο συντελεστής θολερότητας του νερού, β_V είναι ο συντελεστής απορρόφησης του φωτός από τη βιομάζα του φυτοπλαγκτού και β_D είναι ο συντελεστής απορρόφησης του φωτός από τα τρίματα. Ολοκληρώνοντας την εξίσωση (4.9) κατά μήκος της στήλης του νερού προκύπτει ότι η φωτεινή ένταση I στο βάθος z της στήλης τη χρονική στιγμή t δίνεται από την εξίσωση:

$$I(z, t) = I_0 \exp \left\{ - \left[a_T z + \int_0^z (\beta_V X_V(x, t) + \beta_D X_D(x, t)) dx \right] \right\} \quad (4.10)$$

όπου, I_0 είναι η ένταση της προσπίπτουσας φωτεινής ακτινοβολίας στην επιφάνεια του νερού. Οι ημερήσιες αλλαγές στην ένταση I_0 δεν λαμβάνονται υπόψη στην παραπάνω εξίσωση.

4.2.2 Διατήρηση

Η διαδικασία διατήρησης περιλαμβάνει τη διατήρηση των δομών του κυττάρου και την επιδιόρθωση των κατεστραμμένων του δομών. Το κόστος διατήρησης θεωρείται ανάλογο της βιομάζας, επομένως, ο ειδικός ρυθμός διατήρησης $j_{V,M}$ είναι ίσος με:

$$j_{V,M} = k_M \quad (4.11)$$

όπου, k_M είναι ο συντελεστής του ρυθμού διατήρησης και παριστάνει τα mol που απαιτούνται για να διατηρηθεί ένα mol βιομάζας. Στο παρόν μοντέλο δεν προβλέπεται ενεργειακό απόθεμα επομένως, η διατήρηση πληρώνεται από την ίδια τη βιομάζα και όχι από την αφομοίωση προκειμένου να αποφύγουμε προβλήματα αδυναμίας να καλυφθεί η διατήρηση λόγω ανεπαρκούς αφομοίωσης [101].

4.2.3 Ανάπτυξη

Κατά το μετασχηματισμό των θρεπτικών σε βιομάζα απαιτείται δαπάνη ενέργειας λόγω θερμοδυναμικής αναβάθμισης. Με y^0 και y^A συμβολίζονται το βασικό κόστος αναβάθμισης λόγω της ανάπτυξης και το κόστος αναβάθμισης λόγω της αφομοίωσης. Το κόστος για την αφομοίωση είναι ανάλογο της πιθανότητας δέσμευσης φωτονίων ρ δεδομένου ότι πρόκειται για αυτοτροφική αφομοίωση. Επομένως, το συνολικό κόστος αναβάθμισης δίνεται από την εξίσωση:

$$Y = y^0 + \rho y^A \quad (4.12)$$

όπου, ρ είναι η πιθανότητα δέσμευσης φωτονίων από το φυτοπλαγκτονικό κύτταρο και δίνεται από την εξίσωση 3.5 (βλέπε Κεφάλαιο 3). Λαμβάνοντας υπόψη τα χόστη αναβάθμισης και διατήρησης προκύπτει ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης είναι ίσος με:

$$j_{V,G} = \frac{j_A}{Y} - j_{V,M} \quad (4.13)$$

4.2.4 Θνησιμότητα

Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την κυτταρική αναπνοή προκαλούν ανεπανόρθωτη ζημιά στο DNA του οργανισμού και έχουν άμεση σχέση με τη γήρανσή του [91]. Ο στιγμιαίος ρυθμός θανάτου των κυττάρων h θεωρήθηκε σταθερός στη παρούσα μελέτη, δηλαδή:

$$j_{V,H} = h \quad (4.14)$$

Η θνησιμότητα λόγω μη διαθεσιμότητας θρεπτικών ή φωτός λαμβάνεται υπόψη από το μοντέλο. Αυτό συμβαίνει όταν ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης είναι αρνητικός όπως προκύπτει από την εξίσωση 4.13.

4.3 Αποτελέσματα

Η κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού παρουσιάζει διακυμάνσεις που καθορίζονται από την ένταση της προσπίπτουσας φωτεινής ακτινοβολίας στην επιφάνεια του νερού, από την απορρόφηση της φωτεινής ακτινοβολίας κατά τη διάδοσή της στη στήλη του νερού τόσο λόγω της φυσικής απορρόφησης όσο και λόγω αυτοσκιασμού, από τη διαθεσιμότητα θρεπτικών, από τα είδη των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών που αναπτύσσονται στη στήλη του νερού, από τη φωτοπερίοδο, από τη θερμοκρασία, από το ρυθμό ανάμειξης του νερού κατά μήκος της στήλης, από το βαθμό θήρευσης των φυτοπλαγκτονικών οργανισμών και από τη χρονική στιγμή που πραγματοποιείται η δειγματοληψία. Το σύστημα μελετήθηκε σε σταθερή θερμοκρασία και σε συνθήκες ασθενούς ανάμειξης του νερού της στήλης. Θεωρήσαμε ότι η στήλη περιέχει ένα είδος φυτοπλαγκτονικού οργανισμού που αναπτύσσεται με περιοριστικά συστατικά το φως και το διαλυμένο ανόργανο άνθρακα. Στη δόμηση του μοντέλου λάβαμε υπόψη το φαινόμενο της φωτοαναστολής και την προσαρμογή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των μικροοργανισμών στις διαφορετικές συνθήκες φωτός και διοξειδίου του άνθρακα ανάλογα με την εκάστοτε θέση τους στη στήλη του νερού. Επίσης λάβαμε υπόψη το φαινόμενο του αυτοσκιασμού των υποκείμενων μικροοργανισμών από τους μικροοργανισμούς (ζωντανούς και πεθαμένους) που βρίσκονται πάνω από αυτούς στη στήλη του νερού. Οι προσομοιώσεις έγιναν με ομοιόμορφη αρχική κατανομή βιομάζας κατά μήκος της στήλης και συνεχίστηκαν για δέκα

ημέρες με σταθερή φωτεινή ένταση στην επιφάνεια της στήλης, χρησιμοποιώντας τις παραμετρικές τιμές που παρατίθενται στον Πίνακα 4.2.

Πίνακας 4.2: Πίνακας παραμετρικών τιμών του μοντέλου. Όλες οι συγκεντρώσεις είναι εκφρασμένες σε mol C. Οι πηγές και ο καθορισμός των παραμετρικών τιμών δίνονται στο Παράρτημα.

Αρχικές συγκεντρώσεις (σε μΜ)

$$X_{IC} \quad 2100 \qquad X_V \quad 5 \qquad X_D \quad 0$$

Φωτεινές Εντάσεις (σε μμολ photons m⁻² s⁻¹)

$$I_0 \quad 1500 \qquad I_a \quad 40$$

Συντελεστές απορρόφησης της φωτεινής ακτινοβολίας

$$a_T \quad 0.04 \text{ m}^{-1} \qquad \beta_V \quad 0.1 \text{ m}^2 \text{mol}^{-1} \qquad \beta_D \quad 0.05 \text{ m}^2 \text{mol}^{-1}$$

Πιθανότητες δέσμευσης και παράμετροι που σχετίζονται με αυτές

$$\begin{array}{lllll} \rho_0 & 0.4959 & \rho_{min} & 0.3842 & \beta & 0.01 \\ \rho_{IC} & 0.5 & \rho_N & 0.9 & N & 1 \cdot 10^6 \\ \sigma A_C & 1.18 \text{ } \mu\text{m}^2 & & & & \end{array} \qquad \begin{array}{ll} p & 0.314 \\ Y_K \zeta & 0.2495 \frac{\text{mmol photons m}}{\text{mol CO}_2 \text{ s}} \end{array}$$

Στοιχειομετρικοί συντελεστές (σε mol/mol)

$$y_{C,V} \quad 1.0 \qquad y_{V,A} \quad 1.0$$

Ρυθμοί επεξεργασίας (σε s⁻¹)

$$k_A \quad 1 \qquad k_L \quad 0.95 \qquad k_C \quad 1.5 \qquad k_R \quad 6 \cdot 10^{-4}$$

Ποσότητα φωτονίων για τη διέγερση -απενεργοποίηση μιας PSU (σε amol photons)

$$n_L \quad 1.33 \cdot 10^{-5} \qquad n_C \quad 2 \cdot 10^{-5} \qquad n_I \quad 1.67 \cdot 10^{-2}$$

Κόστη αναβάθμισης (σε mol/mol)

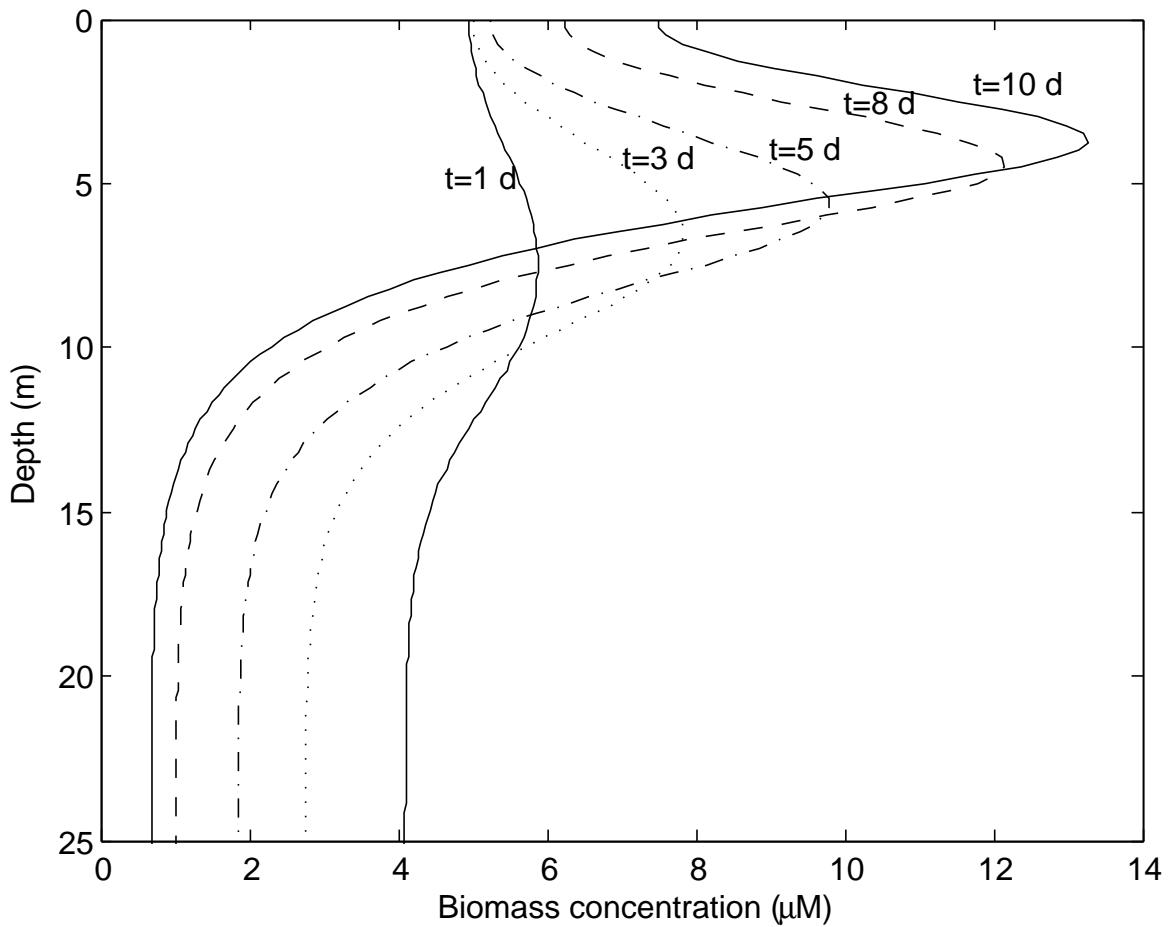
$$y^A \quad 2.0 \qquad y^0 \quad 1.0$$

Άλλες παράμετροι

$$\begin{array}{llll} k_M & 0.1 \text{ d}^{-1} & h & 0.1 \text{ d}^{-1} \\ k_V & 0.5 \text{ m}^2 \text{ d}^{-1} & n_V & 5 \cdot 10^7 \frac{\text{cells}}{\text{μμολ V}} \end{array} \qquad a_{IC} \quad 4 \cdot 10^{-3} \frac{\text{L}}{\text{μμολ d}} \qquad y_{N,L} \quad 0.334 \cdot 10^{-5} \frac{\text{amol NADPH}}{\text{PSU}}$$

Όταν η ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας στην επιφάνεια του νερού είναι σταθερή, και για ομοιόμορφη αρχική κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας, η πρόβλεψη του μοντέλου (Σχήμα 4.2) δίνει μια κατακόρυφη κατανομή βιομάζας που εμφανίζει ένα πεπλατυσμένο μέγιστο την πρώτη ημέρα. Με την πάροδο του χρόνου το μέγιστο της κατανομής γίνεται οξύτερο και ανεβαίνει σταδιακά προς την επιφάνεια.

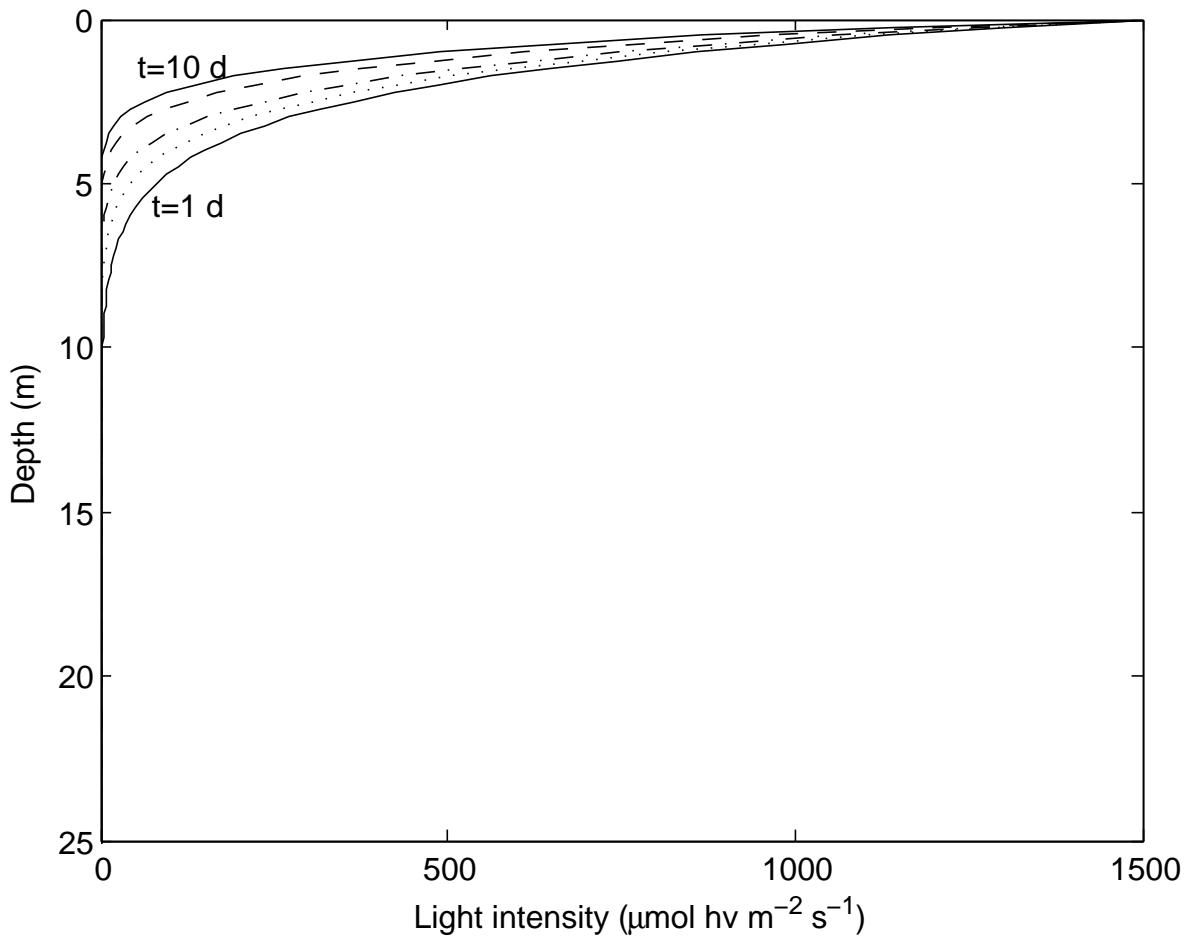
Ταυτόχρονα παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στα κατώτερα στρώματα της στήλης του νερού. Η συγκέντρωση βιομάζας στα κατώτερα στρώματα υποχωρεί σε τιμές μικρότερες από την αρχική συγκέντρωση αμέσως μετά την πρώτη ημέρα και η υποχώρηση αυτή εντείνεται τις επόμενες μέρες. Η όλη συμπεριφορά του πρότυπου κατανομής βιομάζας είναι αποτέλεσμα του εντεινόμενου αυτοσκιασμού που προκαλείται από τους ζωντανούς και πεθαμένους



Σχήμα 4.2: Χρονική εξέλιξη των προφίλ κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για φωτεινή ένταση στην επιφάνεια της στήλης $I_0 = 1500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Το πλατύ μέγιστο της κατανομής ($t = 1\text{d}$) γίνεται οξύτερο μέρα με τη μέρα ($t = 3\text{d}, 5\text{d}, 8\text{d}, 10\text{d}$) και αναδύεται. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

μικροοργανισμούς των υπερκείμενων στρωμάτων στους ζωντανούς μικροοργανισμούς των υποκείμενων στρωμάτων της στήλης του νερού, που με τη σειρά του οφείλεται σε δύο φαινόμενα, την φωτοαναστολή των μικροοργανισμών που βρίσκονται πολύ κοντά στην επιφάνεια της στήλης και την προσαρμογή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των μικροοργανισμών που βρίσκονται στα βαθύτερα στρώματα σε συνθήκες χαμηλού φωτισμού, όπως φαίνεται και από τα αντίστοιχα πρότυπα απορρόφησης της φωτεινής ακτινοβολίας που παρατίθενται στο Σχήμα 4.3.

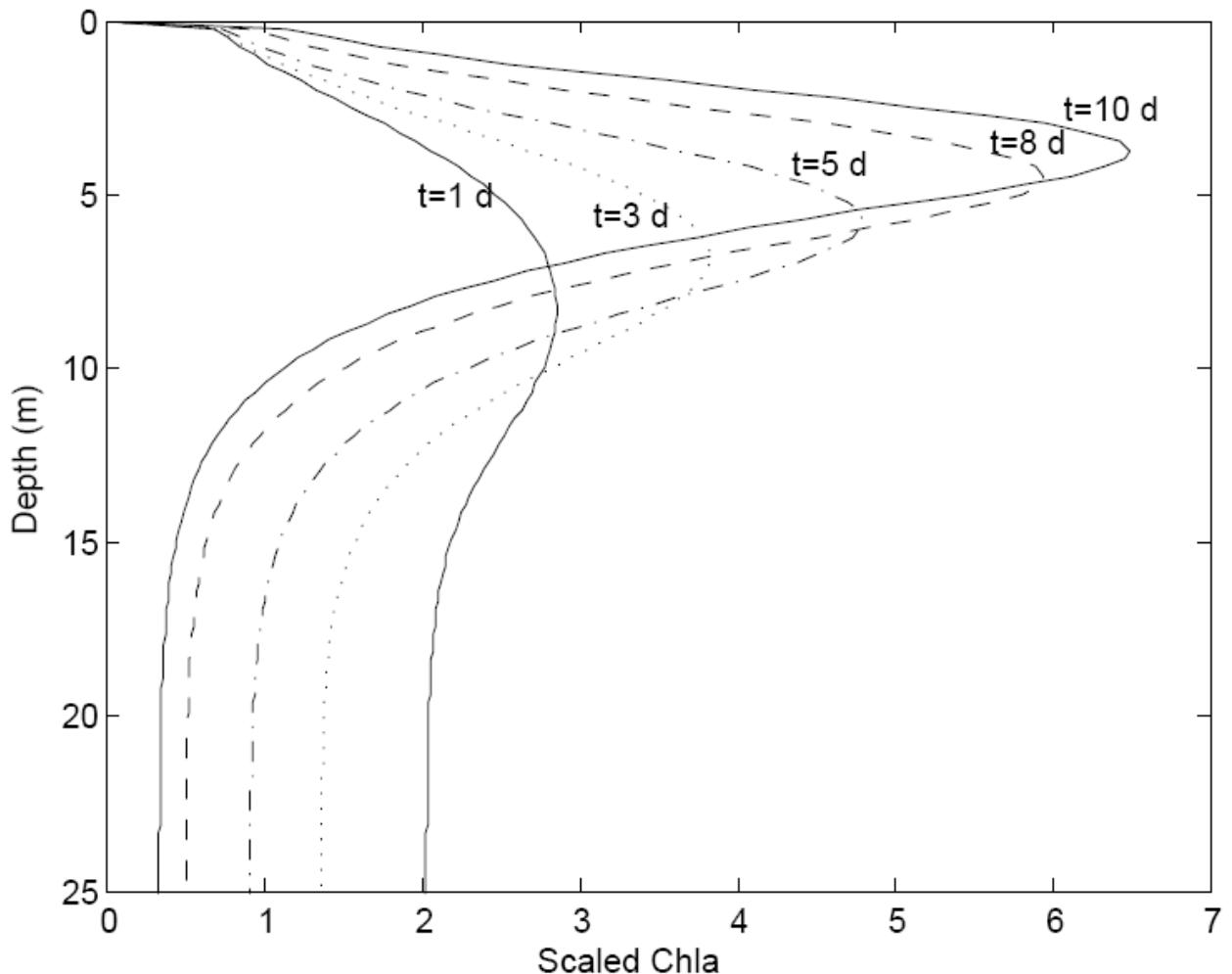
Αντίστοιχο πρότυπο, με αυτό της βιομάζας, παρουσιάζει η κατανομή χλωροφύλλης (Σχήμα 4.4). Το αποτέλεσμα αυτό έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της διαφωνίας που υπάρχει για το αν πρέπει να χρησιμοποιείται ή όχι η κατανομή χλωροφύλλης για την εκτίμηση της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας. Οι επικριτές αυτής της χρήσης επικαλούνται το γεγονός ότι η αναλογία άνθρακα-χλωροφύλλης στα φυτοπλαγκτονικά κύταρα δεν παραμένει σταθερή στη στήλη του νερού. Αυτό είναι μια πραγματικότητα λόγω της διαφορετικής προσαρμογής του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των φυτοπλαγκτονικών κυττάρων που οφείλεται στη διαφορετική διαθεσιμότητα φωτός και θρεπτικών ανάλογα με τη θέση



Σχήμα 4.3: Χρονική εξέλιξη των προφίλ απορρόφησης της φωτεινής έντασης στη στήλη του νερού. Η απορρόφηση εντείνεται με την πάροδο του χρόνου λόγω της αλλαγής του πρότυπου κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού και λόγω των τριμάτων. Η φωτεινή ένταση στην επιφάνεια της στήλης είναι $I_0 = 1500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

τους στη στήλη του νερού. Κύτταρα που βρίσκονται στα βαθύτερα στρώματα της στήλης διαθέτουν μεγαλύτερη ποσότητα χλωροφύλλης, λόγω ανάπτυξης σε φως χαμηλότερης φωτεινής έντασης, έναντι των κυττάρων που βρίσκονται στα ανώτερα στρώματα. Το φαινόμενο αυτό ποσοτικοποιείται από την πιθανότητα ρ_L , όπως αυτή προκύπτει από τις εξισώσεις 3.1 - 3.5 (βλέπε Κεφάλαιο 3). της χλωροφύλλης θεωρείται ανάλογη της πιθανότητας ρ_L και της συγκέντρωσης της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας X_V . Όμως, η κατανομή της συνολικής ποσότητας χλωροφύλλης εξαρτάται και από την κατανομή των φυτοπλανκτονικών κυττάρων στη στήλη του νερού, δηλαδή από την ποσότητα της φυτοπλανκτονικής βιομάζας σε κάθε επιμέρους βάθος της στήλης του νερού. Αν συμβολίσουμε με $[chl\ a]^*$ τη συγκέντρωση χλωροφύλλης ως προς τη σταθερά αναλογίας, τότε $[chl\ a]^* = \rho_L X_V$. Το μοντέλο λαμβάνει υπόψη του τόσο την κατανομή της φυτοπλανκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού (X_V) όσο και την προσαρμογή των κυττάρων στη διαθεσιμότητα φωτός και διοξειδίου του άνθρακα ανάλογα με τη θέση τους στη στήλη του νερού (ρ_L) και προβλέπει ότι το πρότυπο κατανομής της χλωροφύλλης στη στήλη του νερού (Σχήμα 4.4) είναι παρόμοιο με αυτό της φυτο-

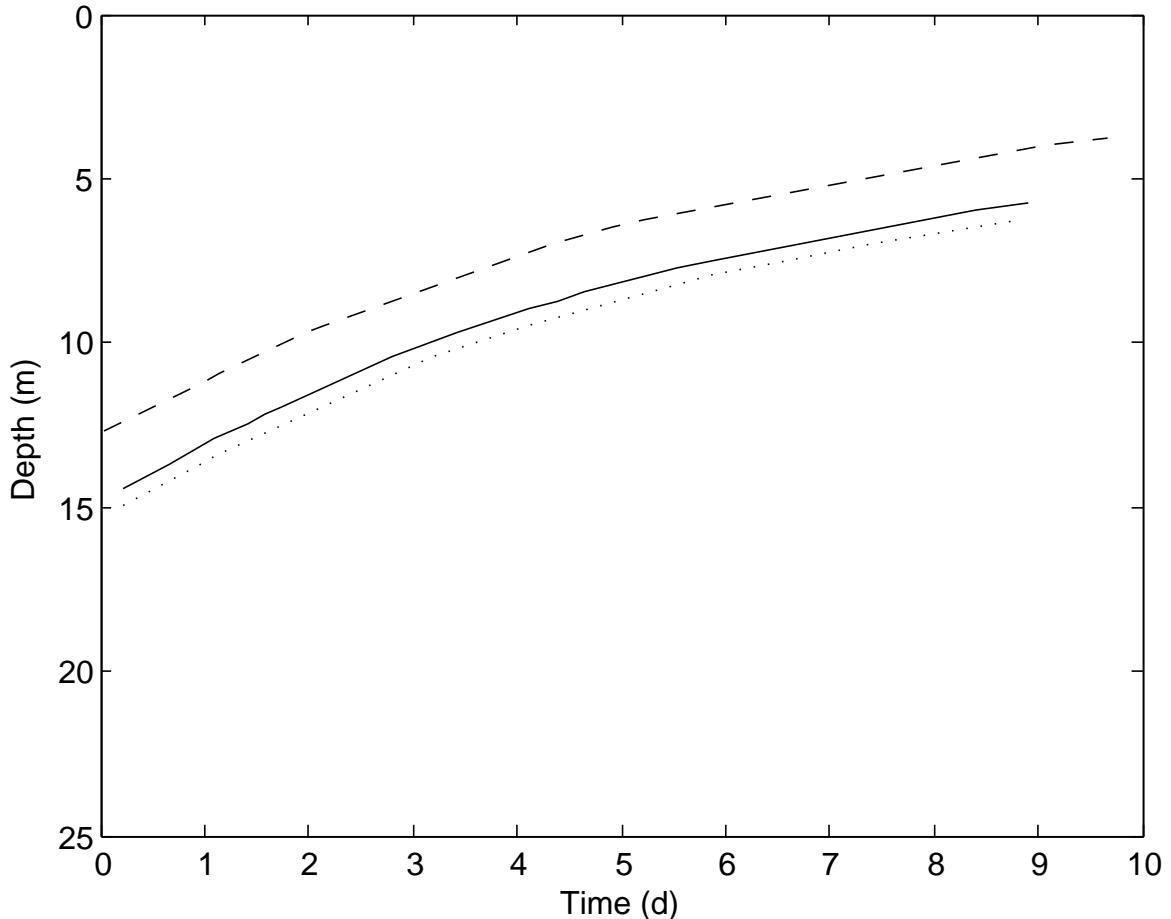
πλαγκτονικής βιομάζας με τη διαφορά ότι τα μέγιστα του παρουσιάζονται σε λίγο μεγαλύτερο βάθος.



Σχήμα 4.4: Χρονική εξέλιξη των προφίλ κατανομής της χλωροφύλλης στη στήλη του νερού, για φωτεινή ένταση στην επιφάνεια της στήλης $I_0=1500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Το πλατύ μέγιστο της κατανομής ($t = 1d$) γίνεται οξύτερο μέρα με τη μέρα ($t = 3d, 5d, 8d, 10d$) και αναδύεται. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

Πολλά μαθηματικά μοντέλα εστιάζουν στον υπολογισμό του χρίσμου βάθους, δηλαδή του βάθους στο οποίο η φωτοσύνθεση ισοφαρίζεται από την αναπνοή ή αλλιώς στο οποίο ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων είναι μηδενικός. Το μοντέλο προβλέπει ότι το χρίσμα βάθους δεν παραμένει σταθερό στην πορεία του χρόνου, αλλά ακολουθεί το πρότυπο που παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.5. Το χρίσμα βάθους είναι αρκετά μεγάλο αρχικά και μειώνεται σταδιακά και μη γραμμικά με το πέρασμα του χρόνου, τείνοντας να σταθεροποιηθεί κοντά στη επιφάνεια της στήλης του νερού. Στο σχήμα 4.5 φαίνονται τρείς προσομοιώσεις του μοντέλου για το χρίσμα βάθους, για τρείς διαφορετικές τιμές της φωτεινής έντασης I_0 στην επιφάνεια του νερού. Το πρότυπο του χρίσμου

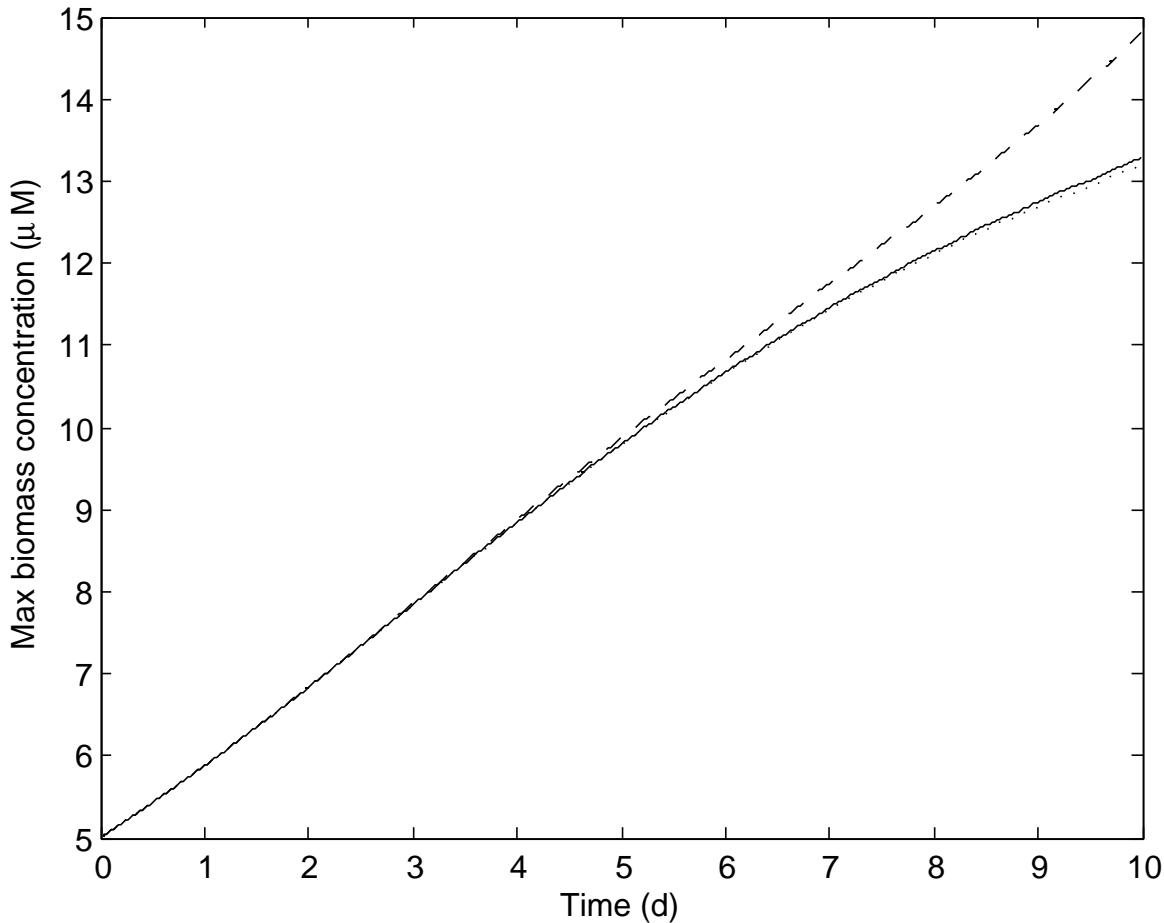
βάθους είναι παρόμοιο στις τρείς περιπτώσεις. Όμως, όταν η I_0 αυξηθεί το χρίσιμο βάθος γίνεται μεγαλύτερο λόγω εντονότερης φωτοαναστολής (Σχήμα 4.5).



Σχήμα 4.5: Χρονική εξέλιξη του χρίσιμου βάθους της κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για τρείς διαφορετικές τιμές της φωτεινής έντασης στην επιφάνεια της στήλης, $I_0=500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (γραμμή με παύλες), $I_0=1500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (συνεχής γραμμή) και $I_0=2000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες τιμές παραμετρικές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

Στο Σχήμα 4.6 παρουσιάζονται οι προβλέψεις του μοντέλου για τη μέγιστη συγκέντρωση βιομάζας στην πορεία του χρόνου, για τις τρείς διαφορετικές τιμές της I_0 . Διαφορές αρχίζουν να εμφανίζονται μετά την πέμπτη ημέρα, με τη μέγιστη συγκέντρωση που αντιστοιχεί στις μεγαλύτερες φωτεινές εντάσεις να είναι μικρότερη λόγω της φωτοαναστολής (να υμηθούμε ότι η ένταση στην οποία ήταν εγκλιματισμένα αρχικά τα κύτταρα είναι $I_a=40 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Για την πρόβλεψη αυτή δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα για τον έλεγχό της.

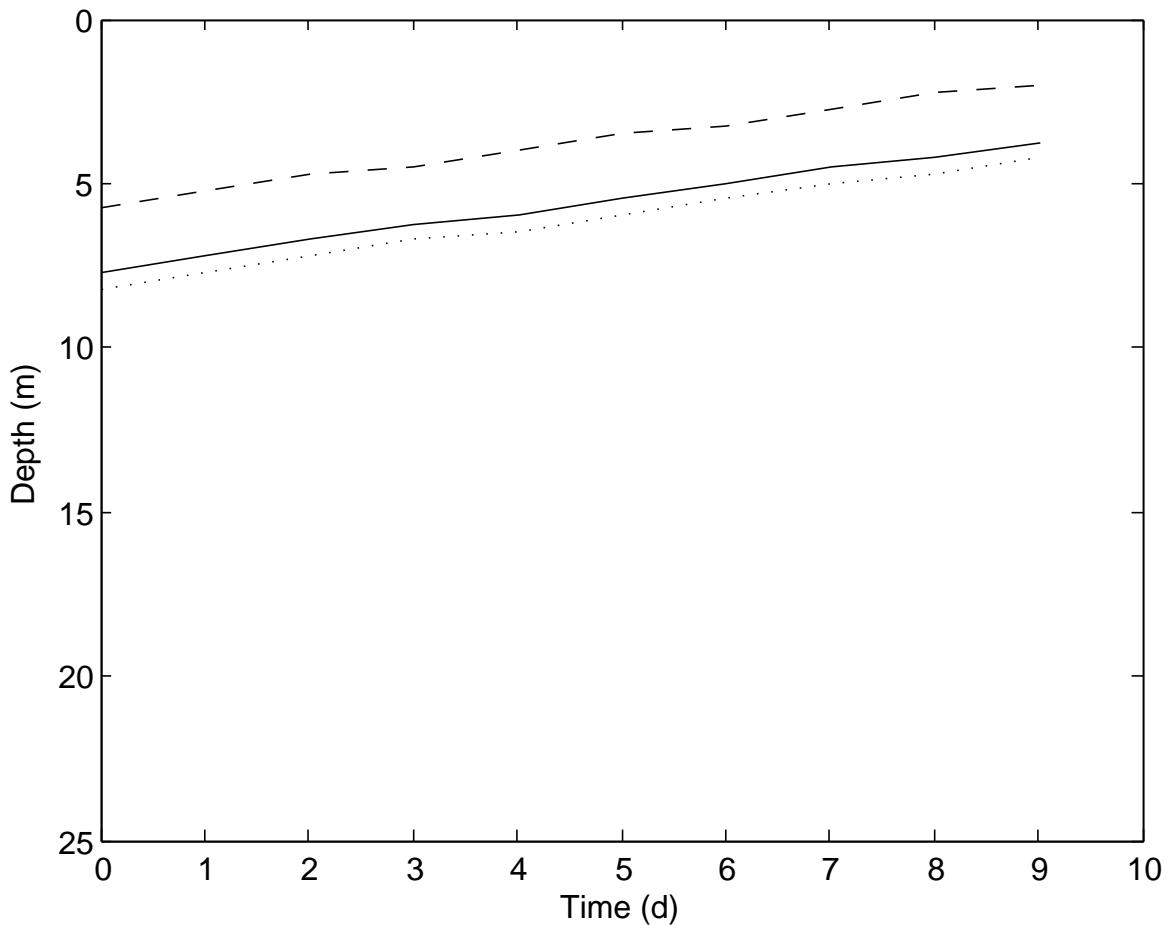
Στο Σχήμα 4.7 παρουσιάζεται το βάθος στο οποίο παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση βιομάζας, συναρτήσει του χρόνου. Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα του μοντέλου το βάθος αυτό μειώνεται με το πέρασμα του χρόνου, όμως η τιμή του για τις μεγάλες φωτεινές εντάσεις είναι, κάθε



Σχήμα 4.6: Χρονική εξέλιξη της μέγιστης συγκέντρωσης της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για τρεις διαφορετικές τιμές της φωτεινής έντασης στην επιφάνεια της στήλης, $I_0=500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με παύλες), $I_0=1500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (συνεχής γραμμή) και $I_0=2000 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

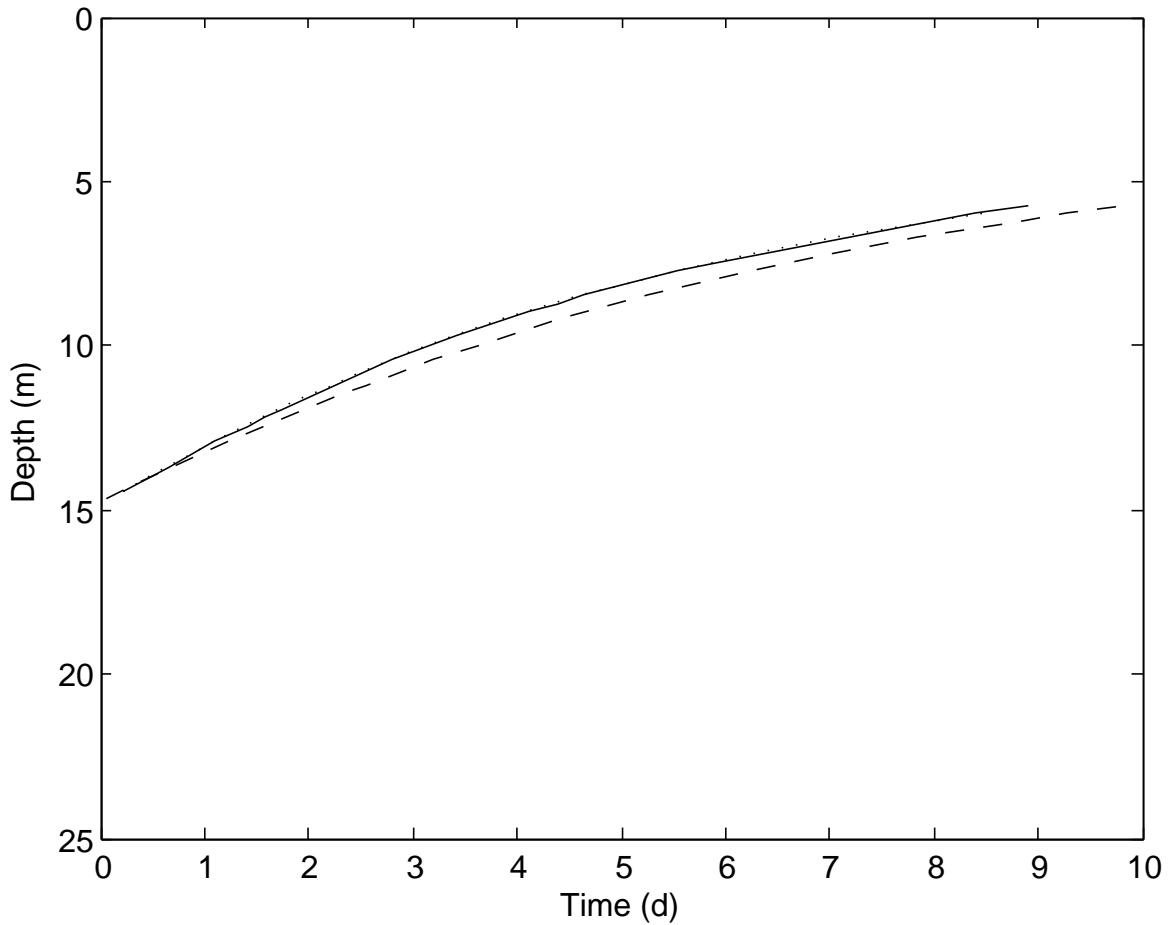
χρονική στιγμή, μεγαλύτερη. Το αποτέλεσμα αυτό ενισχύει τον τελευταίο ισχυρισμό μας για το ρόλο της φωτοαναστολής, όμως και για αυτό δεν υπάρχουν διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα.

Η συγκέντρωση ανόργανου άνθρακα στη στήλη του νερού αυξάνεται χρόνο με το χρόνο λόγω της αύξησης της συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα της γης. Πραγματοποιήσαμε προσομοιώσεις για τρεις τιμές της συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα στη στήλη του νερού. Για τις παραμετρικές τιμές που χρησιμοποιήσαμε προέκυψε ότι η αύξησή της προκαλεί μικρή μείωση του κρίσιμου βάθους (Σχήμα 4.8), σημαντική αύξηση της μέγιστης συγκέντρωσης φυτοπλαγκτονικής βιομάζας (Σχήμα 4.9) και καμιά μεταβολή στο βάθος όπου εμφανίζεται το μέγιστο της συγκέντρωσης βιομάζας (Σχήμα 4.10). Το πρώτο και το τρίτο από τα τελευταία αποτελέσματα (Σχήματα 4.8 και 4.10) οφείλονται στο ότι το κρίσιμο βάθος και το βάθος που παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωσης φυτοπλαγκτονικής βιομάζας επηρεάζονται περισσότερο από την ένταση της φωτει-



Σχήμα 4.7: Χρονική εξέλιξη του βάθους στο οποίο παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για τρείς διαφορετικές τιμές της φωτεινής έντασης στην επιφάνεια της στήλης, $I_0=500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με παύλες), $I_0=1500 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (συνεχής γραμμή) και $I_0=2000 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

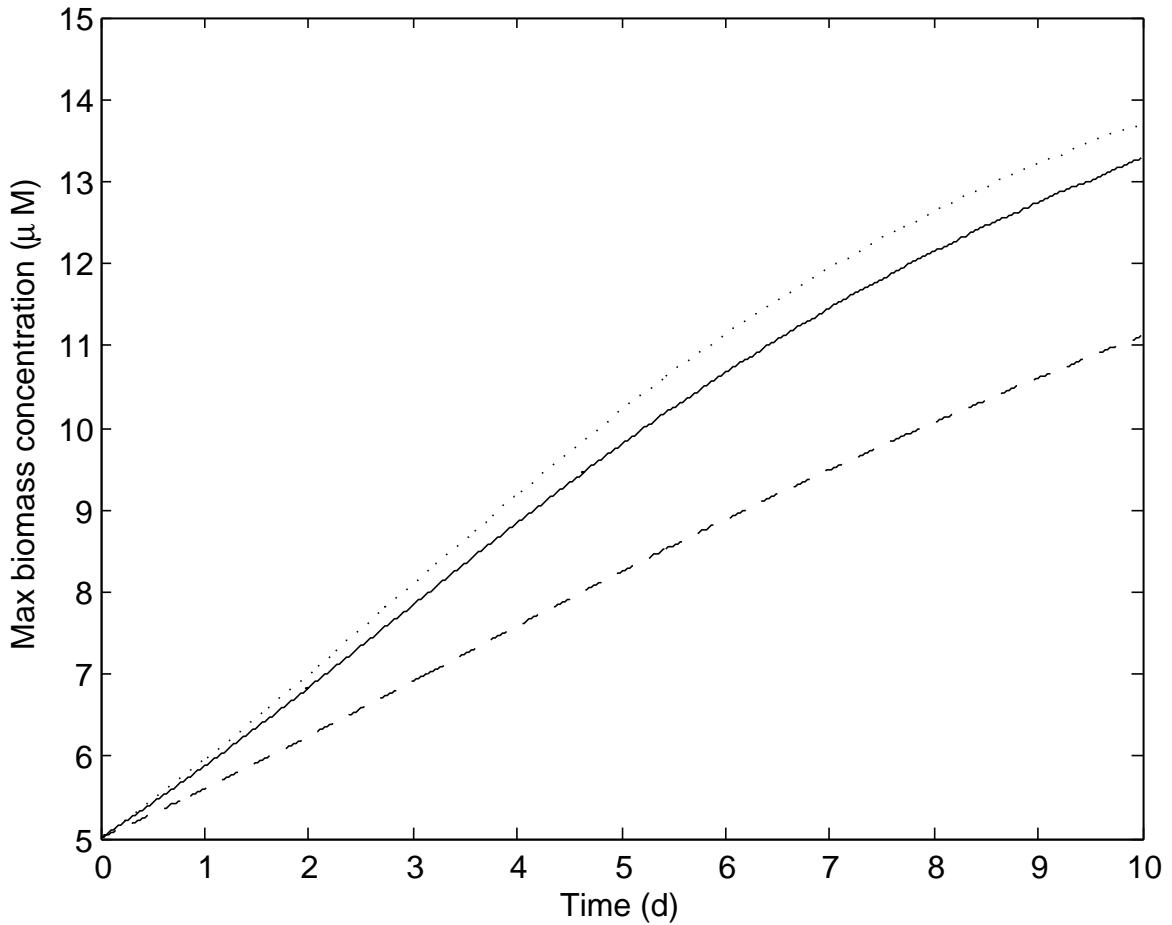
νής ακτινοβολίας (Σχήματα 4.5, 4.7) που είναι ίδια στις τρείς προσομοιώσεις. Το κρίσιμο βάθος είναι μικρότερο στις προσομοιώσεις μεγάλης συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα (Σχήμα 4.8) λόγω του αυξημένου αυτοσκιασμού από την αντίστοιχη αυξημένη ποσότητα φυτοπλαγκτονικής βιομάζας (Σχήμα 4.9). Η μέγιστη συγκέντρωση φυτοπλαγκτονικής βιομάζας ευνοείται από την αυξημένη συγκέντρωση ανόργανου άνθρακα όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.9.



Σχήμα 4.8: Χρονική εξέλιξη του κρίσιμου βάθους της κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για τρείς διαφορετικές τιμές της συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα στη στήλη του νερού, $X_{IC}=1000 \mu\text{M}$ (γραμμή με παύλες), $X_{IC}=2100 \mu\text{M}$ (συνεχής γραμμή) και $X_{IC}=3000 \mu\text{M}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

4.4 Συζήτηση

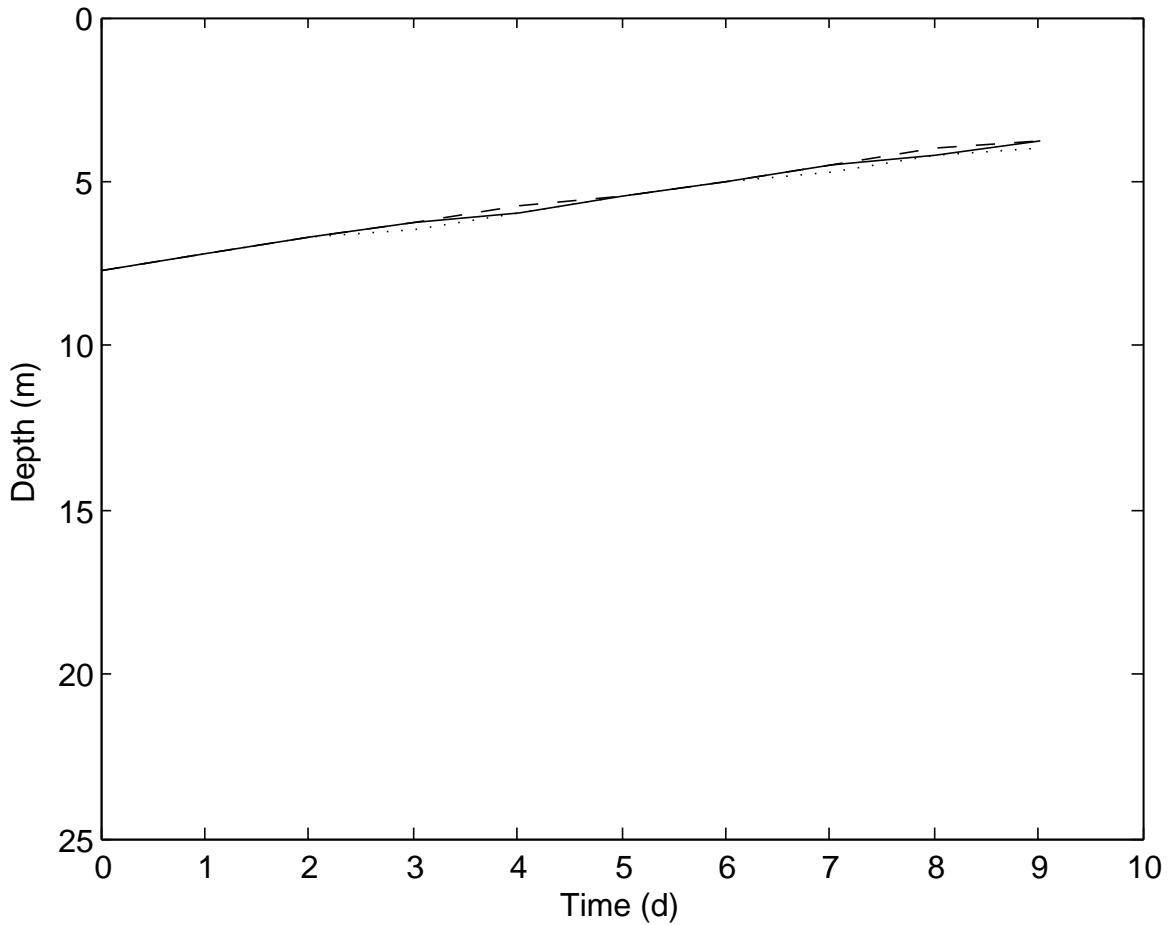
Αναπτύζαμε ένα μηχανιστικό δυναμικό μοντέλο για την κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας ενός φωτοσυνθετικού μικροοργανισμού στη στήλη του νερού, βασισμένοι στην έννοια της συνθετικής μονάδας. Η έννοια αυτή μας δίνει τη δυνατότητα να χειρίζόμαστε το φως με τον ίδιο τρόπο που χειρίζόμαστε τα θρεπτικά γιατί χρησιμοποιεί ροές υποστρωμάτων και όχι συγκεντρώσεις. Το πληθυσμιακό μοντέλο που αναπτύζαμε λαμβάνει υπόψη τον αυτοσκιασμό και τη φωτοαναστολή και είναι ικανό να κάνει προβλέψεις όταν οι συνθήκες ανάμειξης του νερού στη στήλη είναι ασθενείς και σε σταθερή θερμοκρασία. Σύμφωνα με τις προβλέψεις του μοντέλου, τα πρότυπα κατανομής φυτοπλαγκτονικής βιομάζας έχουν τη μορφή που απεικονίζεται στο Σχήμα 4.2. Τα πρότυπα αυτά που έχουν παρατηρηθεί και πειραματικά [37] έχουν σχέση με τη θερμοκρασία στη στήλη του νερού, όμως δεν είναι αυτός ο παράγοντας που τα δημιουργεί, αλλά η κατανομή τους φωτός και των θρεπτικών στη στήλη του νερού [37]. Οι Carlson et al. [30] σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε



Σχήμα 4.9: Χρονική εξέλιξη της μέγιστης συγκέντρωσης της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για τρείς διαφορετικές τιμές της συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα στη στήλη του νερού, $X_{IC}=1000 \mu\text{M}$ (γραμμή με παύλες), $X_{IC}=2100 \mu\text{M}$ (συνεχής γραμμή) και $X_{IC}=3000 \mu\text{M}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

στη βορειοδυτική θάλασσα των Σαργασσών βρήκαν ότι τα πρότυπα κατανομής του διαλυμένου οργανικού άνθρακα την Άνοιξη και το Καλοκαίρι διέφεραν πάρα πολύ από αυτά της θερμοκρασίας, για βάθη μέχρι 100 m, υποδηλώνοντας ότι βιοχημικές και όχι φυσικές διεργασίες ρυθμίζουν την κατανομή του οργανικού διαλυμένου άνθρακα στη διάρκεια αυτών των εποχών [30].

Η κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού εξαρτάται από το είδος του μικροοργανισμού [64], όμως σε όλα τα πρότυπα κατανομής παρατηρείται μια ακολουθία αντίστοιχη με αυτήν που απεικονίζεται στο Σχήμα 4.2. Οι Hajdu et al. [64] στη μελέτη τους για την άνθιση δύο τοξικών κυανοβακτηρίων στη Βαλτική θάλασσα υποστηρίζουν ότι ο κυρίαρχος εξωτερικός παράγοντας που ρυθμίζει αυτή τη συμπεριφορά είναι το φως. Λόγω διαφορών στη σύσταση του φωτοσυνθετικού τους μηχανισμού, μικροοργανισμοί διαφορετικών ειδών έχουν διαφορετικές απαιτήσεις όσον αφορά τη φωτεινή ένταση που αναπτύσσονται με αποτέλεσμα να δίνουν μέγιστα κατανομής σε διαφορετικό βάθος [64]. Ο ακριβής πειραματικός προσδιορισμός της κατακόρυφης κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας είναι επιρρεπής σε σφάλματα λόγω του ότι οι φυτοπλαγκτονικοί μι-



Σχήμα 4.10: Χρονική εξέλιξη του βάθους στο οποίο παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, για τρείς διαφορετικές τιμές της συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα στη στήλη του νερού, $X_{IC}=1000 \mu\text{M}$ (γραμμή με παύλες), $X_{IC}=2100 \mu\text{M}$ (συνεχής γραμμή) και $X_{IC}=3000 \mu\text{M}$ (γραμμή με τελείες). Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 4.2.

χροοργανισμοί συσσωρεύονται σε σχετικά λεπτά στρώματα [64] σε αντίθεση με ένα μηχανιστικό μοντέλο που μπορεί να προβλέπει την κατανομή σε όλη τη στήλη του νερού και στην πορεία του χρόνου (Σχήμα 4.2), να εστιάζεται στις πιο ενδιαφέρουσες περιοχές τις, όπως είναι το κρίσιμο βάθος [74] (Σχήματα 4.5 και 4.8) και το βάθος στο οποίο εμφανίζεται το μέγιστο της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας (Σχήματα 4.7 και 4.10) ή στις μέγιστες συγκεντρώσεις βιομάζας (Σχήματα 4.6 και 4.9) και να ελέγχεται για την ορθότητα των προβλέψεων του από στοχευόμενες δειγματοληψίες.

Σύμφωνα με τις προβλέψεις του μοντέλου, η κατανομή χλωροφύλλης στη στήλη του νερού ακολουθεί παρόμοιο πρότυπο με αυτό της βιομάζας. Η κατανομή βιομάζας έχει μέγιστο ίδιο ή ακριβώς πάνω από το μέγιστο της κατανομής της χλωροφύλλης όπως έχει παρατηρηθεί και πειραματικά [37]. Οι φυτοπλαγκτονικοί μικροοργανισμοί μπορούν να κάνουν πολύ περισσότερα από το να αφομοιώνουν παθητικά, να αναπτύσσονται και να περιμένουν να θηρευτούν [37]. Τα φυτοπλαγκτονικά κύτταρα που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια του νερού, όπου η φωτεινή ένταση είναι υψηλή σε σχέση με τη συγκέντρωση του ανόργανου άνθρακα, διαθέτουν πολύ μικρή ποσότητα χλωροφύλλης

[37]. Με την αύξηση του βάθους, η μείωση της φωτεινής έντασης προκαλεί αύξηση της ποσότητα χλωροφύλλης στα φυτοπλαγκτονικά κύτταρα [37].

Την πάρχει σκεπτικισμός για το αν πρέπει να χρησιμοποιούνται τα πρότυπα κατανομής της χλωροφύλλης στην εκτίμηση της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας, λόγω του ότι η σχέση χλωροφύλλης α και φυτοπλαγκτονικής βιομάζας είναι εξαιρετικά μεταβαλλόμενη [37]. Η συγκέντρωση χλωροφύλλης αποτελεί τον καλύτερο χημικό δείκτη της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στο φυσικό περιβάλλον [37]. Ο λόγος είναι απλός, οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί έχουν χλωροφύλλη ενώ οι υπόλοιποι δεν έχουν. Πάντως, οι μετρήσεις χλωροφύλλης έχουν όρια. Η χλωροφύλλη αποτελεί περίπου το 1% της ξηρής βιομάζας. Όμως, οι εκτιμήσεις για τη φυτοπλαγκτονική βιομάζα, που γίνονται με πολλαπλασιασμό της συγκέντρωσης χλωροφύλλης με το λόγο άνθρακα – χλωροφύλλης [14, 47] είναι άστοχες γιατί αυτός ο λόγος δεν παραμένει σταθερός.

Σύμφωνα με τις προβλέψεις του μοντέλου η κατανομή της χλωροφύλλης στη στήλη του νερού μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης της κατανομής της φυτοπλανκτονικής βιομάζας και να χρησιμοποιηθούν οι μετρήσεις της για την εκτίμηση της. Πολύ κοντά στη επιφάνεια παρότι υπάρχει φυτοπλανκτονική βιομάζα η ποσότητα χλωροφύλλης είναι μηδαμινή γιατί τα φυτοπλανκτονικά κύτταρα διαθέτουν ελάχιστη ποσότητα χλωροφύλλης λόγω έντονης φωτοαναστολής (Σχήματα 4.4, 4.3). Ο ανταγωνισμός των φυτοπλαγκτονικών φωτοσυνθετικών κυττάρων για ανόργανο άνθρακα είναι εμφανής στα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.9. Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση της φωτεινής ακτινοβολίας, για ίδια συγκέντρωση ανόργανου άνθρακα, και όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα, για ίδια φωτεινή ένταση, τόσο μεγαλύτερη είναι η μέγιστη συγκέντρωση φυτοπλαγκτονικής βιομάζας.

Τα τελευταία χρόνια κερδίζει έδαφος η προσπάθεια δημιουργίας μοντέλων που να προβλέπουν την κατανομή φυτοπλαγκτονικής βιομάζας ή ενσωμάτωσης ανόργανων θρεπτικών με τη χρήση δεδομένων χλωροφύλλης από δορυφόρους. Αρκετά από τα μοντέλα είναι εμπειρικά [9, 19, 53, 181] και από τη φύση τους αδύναμα να κάνουν προβλέψεις. Κάποια άλλα μοντέλα αν και είναι ημι-εμπειρικά έως καθαρά εμπειρικά [18, 20, 72, 166] καταφέρνουν να έχουν πολύ καλή προσαρμογή στα πειραματικά δεδομένα, είναι όμως από τη φύση τους ειδοξειδικευμένα και δεν μπορούν να εφαρμοστούν για άλλο είδος οργανισμού ή να επεκταθούν και να εφαρμοστούν σε πληθυσμούς φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών που αποτελούνται από διαφορετικά είδη [72, 166]. Ένα άλλο μειονέκτημα των εμπειρικών μοντέλων είναι η χρήση διαφορετικών εξισώσεων σε διαφορετικές συνθήκες. Στο εμπειρικό τους μοντέλο οι Hood et al. χρησιμοποιούν διαφορετική εξίσωση όταν υποψίαζονται φωτοαναστολή και διαφορετική όταν θεωρούν ότι δεν συμβαίνει φωτοαναστολή [72]. Την πάρχουν όμως και δυναμικά μαθηματικά μοντέλα [74, 87] που εξηγούν την άνθιση του φυτοπλαγκτού προτείνοντας σαν κυρίαρχους παράγοντες το ρυθμό ανάμειξης του νερού και τη φωτεινή ένταση αλλά παραβλέπουν την

φωτοαναστολή επικαλούμενοι την απλότητα του μοντέλου [74, 87, 172]. Όμως, η φωτοαναστολή είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που καθορίζουν τη διαστρωμάτωση της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας (Σχήματα 4.2, 4.3, 4.5, 4.6 και 4.7).

Τα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα αυξάνονται λόγω της ανθρωπογενούς δραστηριότητας [52] με συνέπεια την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου ανόργανου άνθρακα και τη μείωση του pH των ωκεανών [52]. Σύμφωνα με τις προβλέψεις του μοντέλου (Σχήματα 4.8, 4.9 και 4.10), η αύξηση της συγκέντρωσης του ανόργανου άνθρακα στα καταγεγραμμένα και τα εκτιμώμενα επίπεδα δεν έχει σημαντική επίδραση στην κατανομή φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού, όμως δεν υπάρχουν μέχρι τώρα αξιόπιστα πειραματικά δεδομένα [52] για τον έλεγχο αυτής της πρόβλεψης.

Σύμφωνα με τις υποθέσεις του μοντέλου οι κύριοι μηχανισμοί που παράγουν τα πρότυπα κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού είναι η σχετική διαθεσιμότητα φωτός και θρεπτικών (εδώ ο ανόργανος άνθρακας), ο αυτοσκιασμός από τους μικροοργανισμούς και τα τρίματα των πεθαμένων μικροοργανισμών που βρίσκονται πάνω από αυτούς στη στήλη του νερού, η φωτοαναστολή των μικροοργανισμών που βρίσκονται πολύ κοντά στην επιφάνεια της στήλης και η προσαρμογή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού των μικροοργανισμών ανάλογα με τη θέση τους στη στήλη του νερού. Το μοντέλο, με την παρούσα μορφή μπορεί να επεκταθεί και να συμπεριλάβει και άλλους παράγοντες όπως είναι η θερμοκρασία στη στήλη του νερού, η αλλαγή της φωτεινής έντασης στην επιφάνεια της στήλης του νερού και ο ρυθμός ανάμειξης του νερού. Το μοντέλο δεν μπορεί να εφαρμοστεί, με την παρούσα μορφή, όταν το περιοριστικό θρεπτικό δεν είναι ο άνθρακας αλλά κάποιο άλλο όπως το άζωτο ή ο φωσφόρος λόγω του ότι είναι διαφορετικοί οι μηχανισμοί δέσμευσής τους, μπορεί όμως εύκολα να επεκταθεί και να ενσωματώσει και άλλα θρεπτικά.

Παράρτημα

Στο παράρτημα αυτό δίνονται οι πηγές και ο καθορισμός των παραμετρικών τιμών. Οι τιμές των $\rho_0 = 0.4959$, $\rho_{min} = 0.3842$, $\beta = 0.01$, $p = 0.314$, $Y_K\zeta = 0.2495 \frac{mmol\ photons}{molCO_2 s}$, $I_a = 40 \mu mol\ photons\ m^{-2}\ s^{-1}$, $\sigma A_C = 1.18 \mu m^2$, $n_L = 1.33 \cdot 10^{-5} amol\ photons$, $n_C = 2 \cdot 10^{-5} amol\ photons$, $n_I = 1.67 \cdot 10^{-2} amol\ photons$, $k_L = 0.95 s^{-1}$, $k_C = 1.5 s^{-1}$, $k_R = 6 \cdot 10^{-4} s^{-1}$ είναι ίδιες με αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στο ατομικό μοντέλο που παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 3. Η τιμή του συντελεστή μετασχηματισμού ανά μονάδα βιομάζας $n_V = 5 \cdot 10^7 cells (\mu molV)^{-1}$ εκτιμήθηκε με τη χρήση δικών μας, μη δημοσιευμένων πειραματικών δεδομένων, που προέκυψαν από καλλιέργειες του μονοκύτταρου μικροφύκους *Scenedesmus obliquus*. Οι τιμές των K_A , $y_{C,V}$, $y_{V,A}$, ρ_{IC} , a_{IC} , ρ_N , y^A και y^0 πάρθηκαν από τους Lika and Papadakis [101]. Η τιμή της παραμέτρου $y_{N,L}$ υπολογίζεται από τη σχέση $y_{N,L} = 2y_{O,L}$ Raven et al. [151]. Η τιμή $y_{O,L} = 0.167 \cdot 10^{-5} amolO_2$ που απελευθερώνονται ανά PSU πάρθηκε από τους Kim et al. [86]. Οι τιμές των β_V , β_D , k_V , k_M και h υεωρήθηκαν ίδιοι με αυτές που χρησιμοποίησαν στο μοντέλο τους οι Troost et al. [173]. Για το συντελεστή ύολερότητας, a_T υεωρήθηκε μια ενδιάμεση σταθερή τιμή από αυτές που μέτρησαν οι Hood et al. [72] και Siegel and Michaels [165] ($a_T = 0.04 m^{-1}$). Η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα στη στήλη του νερού $X_{IC} = 2100 \mu M$ πάρθηκε από τους Drange and Haugan [42], και η τιμή της αρχικής συγκέντρωσης φυτοπλαγκτονικής βιομάζας $X_V = 3 \mu M$ από τους Hajdu et al. [64]. Η τιμή της παραμέτρου N είναι μέσα στά όρια των τιμών που μετρήθηκαν από τους Vasilikiotis and Melis [178], Falkowski and Owens [49] και Kromkamp and Limbeek [97].

Κεφάλαιο 5

Εφαρμογές - Πληθυσμιακό μοντέλο φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών για την αποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων

Περίληψη

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν μια ομάδα οργανικών ενώσεων που απαντώνται σε πολλά παράκτια θαλάσσια οικοσυστήματα. Παρότι, η αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από μικροοργανισμούς έχει μελετηθεί εκτενώς τόσο πειραματικά όσο και θεωρητικά, η ικανότητα ορισμένων μικροφυκών να αποικοδομούν φαινολικές ενώσεις, μόνο σχετικά πρόσφατα, άρχισε να ερευνάται. Η αποικοδόμησή των φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη συμβαίνει μόνο αερόβια. Σε αυτό το κεφάλαιο αναπτύσσεται ένα δυναμικό πληθυσμιακό μοντέλο ενεργειακού ισοζυγίου για την αερόβια αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη και ελέγχθηκε πειραματικά με βιβλιογραφικά πειραματικά δεδομένα. Τα μικροφύκη έχουν τη δυνατότητα να παράγουν βιομάζα τόσο φωτοσυνθετικά όσο και, σε μικρότερο βαθμό, από την αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων. Κατά τη δόμηση του μοντέλου χρησιμοποιήθηκε η ιδέα των συνθετικών μονάδων για την πρόσληψη και τις αλληλεπιδράσεις των θρεπτικών και για τη σύζευξη των προϊόντων της αφομοίωσης. Το μοντέλο έχει την ικανότητα να κάνει προβλέψεις σε περιοριστικές συνθήκες οξυγόνου και ανόργανου άνθρακα. Οι προβλέψεις του μοντέλου τυχαίνουν ευρείας πειραματικής επιβεβαίωσης. Το διαλυμένο οξυγόνο, σύμφωνα με τις προβλέψεις του μοντέλου, εμφανίζει χαμηλές συγκεντρώσεις στην ενδιάμεση φάση της αποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων και απότομη αύξηση αμέσως μετά την ολοκλήρωση της αποικοδόμησης, υποδηλώνοντας ότι η έλλειψη οξυγόνου δρα περιοριστικά στην αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη.

5.1 Εισαγωγή

Οι φαινολικές ενώσεις είναι επικίνδυνοι ρύποι των θαλάσσιων και χερσαίων υδάτινων οικοσυστημάτων [40, 154, 155]. Οι κύριες πηγές τέτοιων ρυπαντών είναι οι πετρελαϊκές εγκαταστάσεις, οι φαρμακευτικές και οι χημικές βιομηχανίες. Η παρουσία των φαινολικών ενώσεων στο περιβάλλον, ακόμη και σε μικρές συγκεντρώσεις, εγκυμονεί τεράστιους κινδύνους για τους ζωντανούς οργανισμούς που ζουν σε αυτό [34, 155]. Η ρύπανση του υδάτινου περιβάλλοντος με φαινολικές ενώσεις αλλοιώνει τη βιοκοινότητά του λόγω της υψηλής τοξικότητας αυτών των ουσιών [175]. Επιπλέον, οι συγκεκριμένοι ρύποι συσσωρεύονται τόσο στο έδαφος [103] όσο και στα διαφορετικά τροφικά επίπεδα [154]. Οι φαινολικές ενώσεις μπορούν να απομακρυνθούν από το περιβάλλον και τα βιομηχανικά απόβλητα με φυσικοχημικές διεργασίες όπως είναι η οζονόλυση, η δέσμευση από ενεργό άνθρακα, η χημική οξείδωση και η χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας [61], αλλά αυτές οι πρακτικές δεν μπορούν να έχουν ευρεία εφαρμογή λόγω του ότι είναι συνήθως πολύπλοκες και πανάκριβες [34] και παράγουν και οι ίδιες επικίνδυνα προϊόντα [13]. Για τους λόγους αυτούς, η χρήση βιολογικών μεθόδων αποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων εμφανίζει αυξανόμενο ενδιαφέρον [34]. Ο βιολογικός χειρισμός έχει αποδειχτεί οικονομικότερος, πιο ευέλικτος και πιο ελπιδοφόρος καθώς επιτυγχάνει την πλήρη μετατροπή των φαινολικών ενώσεων σε ανόργανες [175]. Η βιοαποικοδόμηση των οργανικών ρυπαντών είναι δυνατή από ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών που περιλαμβάνει βακτήρια και μύκητες και έχει μελετηθεί εκτενώς τόσο πειραματικά όσο και θεωρητικά [13]. Η ικανότητα ορισμένων μικροφυκών να αποικοδομούν φαινολικές ενώσεις ανακαλύφθηκε πριν από 60 χρόνια [131], όμως η αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη κέρδισε το ενδιαφέρον σχετικά πρόσφατα [160]. Παρότι οι φαινολικές ενώσεις εμφανίζουν υψηλή τοξικότητα σε κάποια μικροφύκη, υπάρχουν κυανοβακτήρια και μικροφύκη (π.χ. *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Selenastrum capricornutum*, *Tetraselmis marina*, *Ochromonas danica*, *Lyngbya gracilis*, *Nostoc punctiforme*, *Oscillatoria animalis* και *Phormidium foveolamm*) που μπορούν να βιοαποικοδομούν φαινολικές ενώσεις [45, 107, 108, 140, 146, 159] και πολυαρωματικούς υδρογονάνθρακες [160, 180] εμφανίζοντας υψηλή ανθεκτικότητα [13, 108, 174]. Η χρήση μικροφυκών στη βιοαποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων έχει αρκετά πλεονεκτήματα, όπως η χρησιμοποίηση φτηνής, άφθονης και ανανεώσιμης πηγής ενέργειας, της ηλιακής ακτινοβολίας, και η παραγωγή βρώσιμης βιομάζας [130] καθώς και η εύκολη ανάπτυξη αυτών των μικροοργανισμών [171]. Έχει παρατηρηθεί ότι μικροφύκη που είναι ευαίσθητα σε φαινολικούς ρυπαντές γίνονται ανθεκτικά σε συνθήκες φωτοετεροτροφίας [108]. Αυτή η ικανότητα τους εξασφαλίζει την επιβίωση σε συνθήκες χαμηλού φωτισμού ή/και χαμηλής διαθεσιμότητας διοξειδίου του άνθρακα και επιτρέπει τη βιολογική διαχείριση υδάτων που έχουν ρυπανθεί με φαινολικές ενώσεις [146]. Παρότι μπορεί να υπάρξει τόσο αερόβια όσο και α-

ναερόβια αποικοδόμηση των φαινολικών ουσιών, η αερόβια διαδικασία είναι προτιμότερη [34]. Οι μηχανισμοί βιοαποικοδόμησης, τόσο στους προκαρυωτικούς όσο και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, απαιτούν την παρουσία οξυγόνου για να ξεκινήσει το σπάσιμο των αρωματικών δακτυλίων [31, 60, 158, 160]. Το τυπικό βιοχημικό μονοπάτι για το μεταβολισμό των φαινολικών ενώσεων είναι η υδροξυλίωση του δακτυλίου προς σχηματισμό κατεχόλης και το επακόλουθο σπάσιμο του αρωματικού δακτυλίου μέσω όρυθο- ή μέτα-οξείδωσης [46, 160].

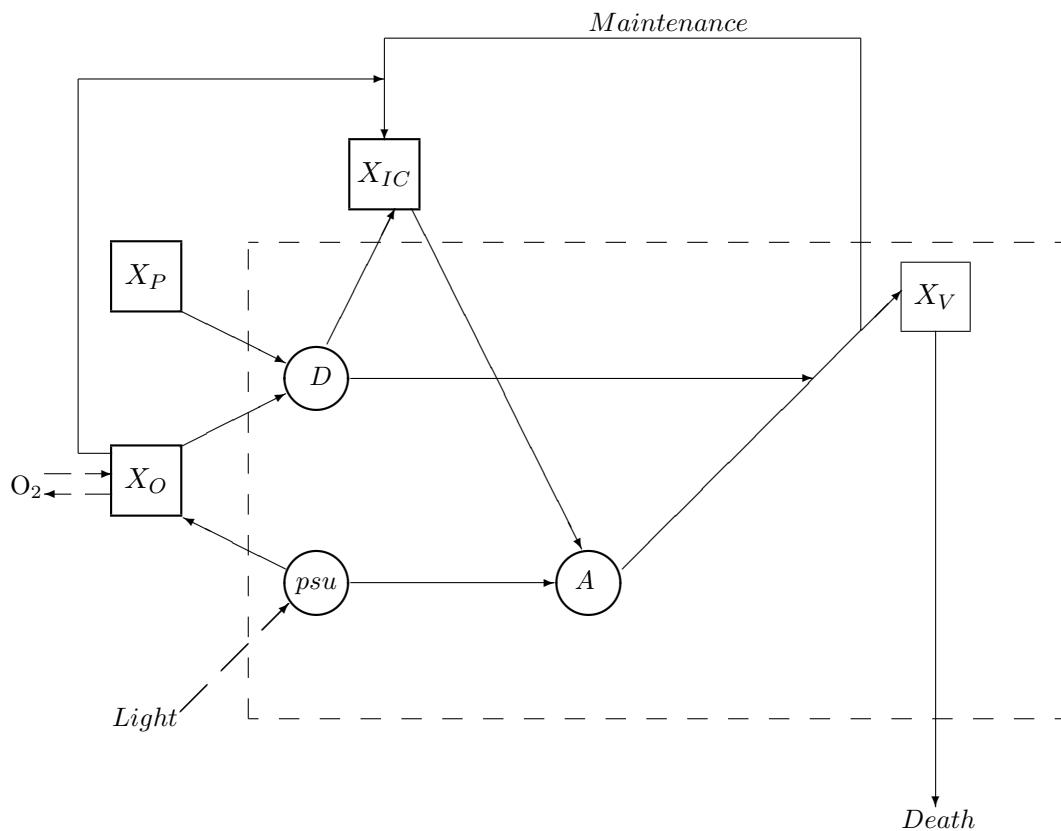
Η μαθηματική μοντελοποίηση της βιοαποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη μπορεί να φανεί χρήσιμη στη βαθύτερη κατανόηση των υποκείμενων βιολογικών διεργασιών και να κάνει προβλέψεις για τις συγκεντρώσεις των συστατικών στο υπό μελέτη σύστημα. Οι προσπάθειες που έχουν γίνει για την ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων για τη βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων αφορούν μόνο βακτήρια ή μύκητες ή μίγματα μικροοργανισμών. Η μόνη προσπάθεια που έχει γίνει για τη μαθηματική μοντελοποίηση της βιοαποικοδόμησης φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη είναι των Lika και Papadakis, (2009) [101] σε συνθήκες μικτοτροφίας χωρίς να λαμβάνεται όμως υπόψη η φωτοαναστολή. Οι κινητικές για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών περιγράφονται συνήθως συναρτήσει ενός περιοριστικού υποστρώματος με τη χρήση της εξίσωσης Monod ή της εξίσωσης Haldane ή παρόμοιων εξισώσεων [8, 23, 27] και λίγα μόνο μαθηματικά μοντέλα λαμβάνουν υπόψη τους τον περιοριστικό ρόλο του οξυγόνου στη βιοαποικοδόμηση τω αρωματικών ρυπαντών [24, 25, 34, 157, 161], παρότι οι αυξημένοι ρυθμοί κατανάλωσης οξυγόνου που έχουν παρατηρηθεί κατά τη βιοαποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων από αερόβια βακτήρια [13] και μικροφύκη [114, 158] υποδηλώνει τον πρωταρχικό ρόλο του οξυγόνου στον καταβολισμό τέτοιων ουσιών. Επομένως, απαιτείται η δόμηση αξιόπιστων μηχανιστικών μοντέλων για την αερόβια αποικοδόμηση αρωματικών ενώσεων από μικροφύκη.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι η δόμηση ενός μηχανιστικού πληθυσμιακού μοντέλου για τη βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από φωτοσυνθετικά μικροφύκη, σε μεταβαλλόμενες συνθήκες φωτός και διοξειδίου του άνθρακα, που να λαμβάνει υπόψη τη φωτοαναστολή. Το πληθυσμιακό μοντέλο που αναπτύσσεται παρακάτω δομήθηκε πάνω στο ατομικό μοντέλο προσαρμογής των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών (Κεφάλαιο 3) και χρησιμοποιεί την ιδέα της συνθετικής μονάδας SU, όπως αυτή έχει προταθεί από τον Kooijman [90, 91], με τρόπο ανάλογο με αυτόν του πληθυσμιακού μοντέλου των Lika και Papadakis [101].

5.2 Το μαθηματικό μοντέλο

Μοντελοποιήσαμε ένα πληθυσμό μικροφυκών και το αβιοτικό του περιβάλλον χρησιμοποιώντας τη θεωρία δυναμικού ενεργειακού ισοζυγίου [91]. Χρησιμοποιήσαμε μόνο μία μεταβλητή κατάστασης

για τον οργανισμό (Βιομάζα V) και τρεις μεταβλητές κατάστασης για το περιβάλλον (φαινολική ένωση P , διαλυμένο οξυγόνο O και διαλυμένος ανόργανος άνθρακας IC). Θεωρήσαμε ότι μόνο ο άνθρακας και το οξυγόνο είναι περιοριστικά για την ανάπτυξη του οργανισμού και την αποικοδόμηση της φαινολικής ένωσης. Το πληθυσμιακό μοντέλο δομήθηκε πάνω στο ατομικό μοντέλο του Κεφαλαίου 2 [133] προκειμένου να λάβουμε υπόψη το φαινόμενο της φωτοαναστολής. Στο Σχήμα 5.1 παρουσιάζεται το διάγραμμα των μεταβολικών διεργασιών και οι αντίστοιχες ροές μάζας και ενέργειας. Τα παραπάνω συστατικά (P, O, IC, V) μαζί με το φως (L) και το NADPH (N), το τελευταίο είναι προϊόν των φωτεινών αντιδράσεων της φωτοσύνθεσης, παίρνουν μέρος σε πέντε μετασχηματισμούς: τη βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ένωσης D , τη φωτοαυτοτροφική αφομοίωση A , την ανάπτυξη G , τη διατήρηση M και τη θνησιμότητα H .



Σχήμα 5.1: Διάγραμμα των μεταβολικών διεργασιών που ποσοτικοποιήθηκαν. Το πλαίσιο με τη διακεκομένη γραμμή περικλείει τον οργανισμό, οι κύκλοι παριστάνουν τις συνθετικές μονάδες, τα τετράγωνα παριστάνουν τις συγκεντρώσεις των συστατικών και τα βέλη δείχνουν τις ροές μετασχηματισμού. Ο οργανισμός έχει μια μεταβλητή κατάστασης για τη βιομάζα X_V και το περιβάλλον έχει τρεις μεταβλητές κατάστασης: τη φαινολική ουσία X_P , το διαλυμένο οξυγόνο X_O και το διαλυμένο ανόργανο άνθρακα X_{IC} . Το οξυγόνο παρέχεται από τη φωτοσύνθεση και καταναλώνεται από τις διεργασίες της βιοαποικοδόμησης και της διατήρησης. Ο ανόργανος διαλυμένος άνθρακας καταναλώνεται στον κύκλο Calvin-Benson και παράγεται κατά τη βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ουσίας και κατά τη διατήρηση. Ένα κύτταρο μικροφύκους έχει την ικανότητα να παράγει βιομάζα μέσω της φωτοαυτοτροφικής αφομοίωσης A (δέσμευση φωτεινής ενέργειας, που μετασχηματίζεται στις φωτοσυνθετικές μονάδες (PSUs) σε NADPH, και διαλυμένου ανόργανου άνθρακα) και, σε μικρότερο βαθμό, μέσω της βιοαποικοδόμησης της φαινολικής ουσίας D . Στο κείμενο αναπτύσσονται οι ζεύξεις αυτών των ροών.

Στον Πίνακα 5.1 συνοψίζεται ποιοτικά ο τρόπος με τον οποίο οι χημικές ουσίες παίρνουν μέ-

ρος στους μετασχηματισμούς που μοντελοποιήθηκαν. Το σύμβολο + στη θέση (k, l) του πίνακα υποδηλώνει ότι η ουσία l παράγεται κατά το μετασχηματισμό k , ενώ το σύμβολο – υποδηλώνει τη χρήση της ουσίας l στο μετασχηματισμό k .

Πίνακας 5.1: Οι χημικές ουσίες και οι μετασχηματισμοί τους. Το σύμβολο «+» σημαίνει παραγωγή και το σύμβολο «-» σημαίνει κατανάλωση χημικής ουσίας στη διάρκεια του αντίστοιχου μετασχηματισμού

| Μετασχηματισμοί (k) | Χημικές ουσίες (l) | | | | | |
|-----------------------|----------------------|---------|----------------------|--------------------|-----------------|---------|
| | Φως | Οξυγόνο | NADPH | Ανόργανος άνθρακας | Φαινολική ένωση | Βιομάζα |
| | L | O | N | IC | P | V |
| Βιοαποικοδόμηση | – | – | | + | – | + |
| Αφομοίωση | – | + | + & – ^(*) | – | | + |
| Ανάπτυξη | | | | | | + |
| Διατήρηση | – | | | + | | – |
| Θηνησιμότητα | | | | | | – |

* Το NADPH παράγεται κατά τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης και καταναλώνεται στον κύκλο Calvin – Benson.

Οι ρυθμοί μεταβολής των τεσσάρων μεταβλητών κατάστασης ποσοτικοποιούνται από τις παρακάτω διαφορικές εξισώσεις

$$\frac{d}{dt}X_P = -j_{P,D}X_V \quad (5.1)$$

$$\frac{d}{dt}X_{IC} = (-j_{IC,A} + j_{IC,D} + j_{IC,M})X_V \quad (5.2)$$

$$\frac{d}{dt}X_O = (j_{O,A} - j_{O,D} - j_{O,M})X_V + K_O(X_{OS} - X_O) \quad (5.3)$$

$$\frac{d}{dt}X_V = (j_{V,G} - j_{V,H})X_V \quad (5.4)$$

όπου X_i είναι η συγκέντρωση της ουσίας i και $j_{i,j}$ είναι η ειδική, ως προς τη βιομάζα, ροή της ουσίας i που σχετίζεται με το μετασχηματισμό j . Ο ρυθμός μεταβολής του διαλυμένου οξυγόνου (Εξίσωση 5.3) έχει δύο συνεισφορές: την παραγωγή O μέσα στην καλλιέργεια (πρώτος όρος) και την ανταλλαγή O με το περιβάλλον που ποσοτικοποιείται από τον όρο $K_O(X_{OS} - X_O)$. Οι μεταβλητές και οι παράμετροι όλων των εξισώσεων του μοντέλου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2.

Το κύτταρο του μικροφύκους έχει τη δυνατότητα να παράγει βιομάζα μέσω της φωτοαυτοτροφίας ή, σε μικρότερο βαθμό, μέσω της βιοαποικοδόμησης των φαινολικών ουσιών. Η βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ουσιών επιτυγχάνεται μέσω των μονοπατιών της όρθο- ή της μέτα-διάρρηξης του αρωματικού δακτυλίου που εμπλέκουν ένζυμα μόνο- και διοξυγενάσης και χρησιμοποιούν οξυγόνο [160, 174, 46]. Επομένως, η διαδικασία της βιοαποικοδόμησης των φαινολικών ουσιών είναι ανεξάρτητη από τη φωτοαυτοτροφική αφομοίωση. Στο παράρτημα δίνονται οι λεπτομέρειες της ποσοτι-

Πίνακας 5.2: Πίνακας των συμβόλων του μοντέλου. Διαστάσεις: t =χρόνος, l =μήκος

| Σύμβολο | Σημασία (διαστάσεις) |
|--------------------------|---|
| t | Χρόνος (t) |
| X_i | Συγκέντρωση της ουσίας i (mol i l^{-3}) |
| I | Ένταση φωτεινής ακτινοβολίας (mol photons $l^{-2} t^{-1}$) |
| $j_{i,k}$ | Ειδική ροή της ουσίας i που σχετίζεται με το μετασχηματισμό k (mol i (mol V) $^{-1} t^{-1}$) |
| j_* | Ειδικός ρυθμός άφιξης του υποστρώματος * (mol * (mol V) $^{-1} t^{-1}$) |
| a_i | Ειδικός ρυθμός άφιξης της ουσίας i (l^3 (mol V) $^{-1} t^{-1}$) |
| ρ_i | Πιθανότητα δέσμευσης της ουσίας i (-) |
| $y_{i,j}$ ($y'_{i,j}$) | Ουσία i που σχηματίζεται (απαιτείται) ανά Ουσία j που μετασχηματίζεται (mol i (mol j) $^{-1}$) |
| k_L, k_1, k_2 | Ρυθμοί επεξεργασίας των υποστρωμάτων στις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, – της βιοαποικοδόμησης, – της αφομοίωσης (t^{-1}) |
| k_A | Ρυθμός επεξεργασίας της ουσίας που αφομοιώνεται (t^{-1}) |
| Y | Συντελεστής απόδοσης ($\frac{mol}{mol}$) |
| k_M | Ρυθμός διατήρησης (t^{-1}) |
| h | Ρυθμός θνησιμότητας (t^{-1}) |
| K_O | Ρυθμός μεταφοράς μάζας για το O_2 (t^{-1}) |
| X_{OS} | Συγκέντρωση κορεσμού του O_2 (mol $O_2 l^{-3}$) |
| y^* | Συντελεστές του κόστους αναβάθμισης ($0 = \beta$ ασικό κόστος, $A =$ κόστος αφομοίωσης, $D =$ κόστος αποικοδόμησης (mol mol $^{-1}$) |

κοποίησης της βιοαποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων και της πρόσληψης των υποστρωμάτων στη διάρκεια της αυτοτροφικής αφομοίωσης. Οι εξισώσεις (5.1)-(5.4) παρέχουν τις δυναμικές του συστήματος που είναι κλειστό στην ανταλλαγή μάζας, αλλά ανοιχτό στην πρόσληψη ενέργειας. Στην περίπτωση που το σύστημα είναι ανοιχτό στην ανταλλαγή οξυγόνου, ο ρυθμός μεταβολής του διαλυμένου οξυγόνου θα έχει δύο συνεισφορές: (1) την παραγωγή και κατανάλωση οξυγόνου μέσα στην καλλιέργεια και (2) την ανταλλαγή οξυγόνου με το περιβάλλον. Οι ροές παραγωγής και κατανάλωσης οξυγόνου δίνονται από τον πρώτο όρο της εξίσωσης (5.3) και η ροή ανταλλαγής από δεύτερο όρο της ίδιας εξίσωσης. Όπου X_{OS} είναι η συγκέντρωση κορεσμού του οξυγόνου και K_O ο χωρικός συντελεστής μεταφοράς μάζας.

5.2.1 Βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων

Η βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από μικροφύκη συμβαίνει αερόβια. Στη διαδικασία της βιοαποικοδόμησης τα δύο υποστρώματα, η φαινολική ένωση και το οξυγόνο, είναι συμπληρωματικά και η δέσμευση της φαινολικής ένωσης συμβαίνει πριν από τη δέσμευση του οξυγόνου. Η απουσία

οξυγόνου αποτρέπει τη βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ένωσης. Τα τελικά προϊόντα αυτού του μετασχηματισμού είναι διοξείδιο του άνθρακα και απλά οργανικά μόρια, χυρίως, πυροσταφυλικό οξύ, μέσω του μονοπατιού της όρθο- ή μέτα-διάρρηξης [158, 160, 46]. Τα προϊόντα της βιοαποικοδόμησης συνεισφέρουν στην ανάπτυξη του οργανισμού είτε άμεσα, με την παραγωγή οργανικών συστατικών, είτε έμμεσα γιατί ο ανόργανος άνθρακας είναι και πάλι διαθέσιμος για αυτοτροφική αφομοίωση. Με την παραδοχή της συμπληρωματικής—σειριακής αποικοδόμησης (βλέπε Παράρτημα A), η οξείδωση της φαινολικής ένωσης περιγράφεται από την εξίσωση $P + y'_{O,P} O \rightarrow y_{IC,P} IC + y_{V,P} V$ και ο ειδικός ρυθμός βιοαποικοδόμησης της φαινολικής ένωσης μπορεί να υπολογιστεί από την πρώτη εξίσωση (5.20). Τα σύμβολα y υποδηλώνουν στοιχειομετρικές αναλογίες. Δηλαδή, τα σύμβολα $y_{IC,P}$ και $y_{V,P}$ υποδηλώνουν, αντίστοιχα, την ποσότητα IC και V που παράγεται ανά μοναδιαία ποσότητα φαινολικής ένωσης που αποικοδομείται και το σύμβολο $y'_{O,P}$ υποδηλώνει την ποσότητα οξυγόνου που απαιτείται ανά μοναδιαία ποσότητα φαινολικής ένωσης που αποικοδομείται. Επομένως, ο ειδικός ρυθμός βιοαποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων σε σχέση με του ρυθμούς άφιξης των υποστρωμάτων δίνεται από την εξίσωση

$$j_{P,D} = \frac{1}{k_1^{-1} + (\rho_P j_P)^{-1} + (\rho_O j_O)^{-1}}, \quad (5.5)$$

όπου j_P και j_O είναι οι ρυθμοί άφιξης της φαινολικής ένωσης και του οξυγόνου, αντίστοιχα. Το ρ_P είναι η πιθανότητα δέσμευσης του P , το ρ_O είναι η πιθανότητα δέσμευσης του O αν το P είναι ήδη δεσμευμένο και το k_1 είναι ο ρυθμός επεξεργασίας των δύο υποστρωμάτων. Η βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ένωσης απαιτεί οξυγόνο το οποίο χρησιμοποιείται με ρυθμό

$$j_{O,D} = y'_{O,P} \frac{1}{k_1^{-1} + (\rho_P j_P)^{-1} + (\rho_O j_O)^{-1}}. \quad (5.6)$$

Ο διαλυμένος ανόργανος άνθρακας και το οργανικό υλικό, που θα μετατραπεί τελικά σε βιομάζα, που προκύπτουν κατά τη μεταβολική διαδικασία της φαινολικής ένωσης παράγονται με ρυθμούς

$$j_{IC,D} = y_{IC,P} \frac{1}{k_1^{-1} + (\rho_P j_P)^{-1} + (\rho_O j_O)^{-1}}, \quad (5.7)$$

$$j_{V,D} = y_{V,P} \frac{1}{k_1^{-1} + (\rho_P j_P)^{-1} + (\rho_O j_O)^{-1}}. \quad (5.8)$$

Οι εξισώσεις (5.5)–(5.8) των ειδικών ρυθμών άφιξης των υποστρωμάτων προκύπτουν από την εξίσωση (5.20). Σε ένα περιβάλλον καλής ανάμειξης, οι ρυθμοί άφιξης των υποστρωμάτων μπορούν να θεωρηθούν ανάλογοι των συγκεντρώσεων τους. Επομένως, οι ειδικοί ρυθμοί άφιξης της φαινολικής ένωσης j_P και του οξυγόνου j_O δίνονται από τις σχέσεις $j_P = a_P X_P$ και $j_O = a_O X_O$, όπου a_P και a_O είναι οι ειδικοί ως προς τη βιομάζα ρυθμοί άφιξης της φαινολικής ένωσης και του οξυγόνου αντίστοιχα.

5.2.2 Φωτοαυτοτροφική Αφομοίωση

Τα μικροφύκη διαθέτουν ένα φωτοσυνθετικό μηχανισμό με τον οποίο μετατρέπουν μέσω διαδοχικών σταδίων το φως και το διοξείδιο του άνθρακα σε αυτοτροφικό προϊόν αφομοίωσης. Αρχικά, τα φωτόνια δεσμεύονται από τις φωτοσυνθετικές μονάδες προς παραγωγή οξυγόνου και NADPH. Στη συνέχεια το NADPH και το διοξείδιο του άνθρακα τροφοδοτούν τον κύκλο Calvin-Benson για να παραχθούν υδατάνθρακες. Ο πρώτος μετασχηματισμός, γνωστός σαν φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, ποσοτικοποιείται από μια απλή ενός υποστρώματος συνθετική μονάδα και ο δεύτερος από μια συνθετική μονάδα συμπληρωματικών υποστρωμάτων που δεσμεύονται παράλληλα. Στην πρώτη ποσοτικοποίηση χρησιμοποιήσαμε για τη δέσμευση του φωτός το μαθηματικό μοντέλο που έχει αναπτυχθεί στο Κεφάλαιο 3 προκειμένου να λάβουμε υπόψη το φαινόμενο της φωτοαναστολής. Κάτι τέτοιο δεν έχει γίνει από άλλα μαθηματικά μοντέλα στο παρελθόν παρότι διαπιστώσαμε ότι επηρεάζει σημαντικά τη διαδικασία της βιοαποικοδόμησης. Τα προϊόντα του πρώτου μετασχηματισμού παράγονται με ρυθμούς

$$j_{O,A} = \frac{y_{O,L} N n_V k_L}{\left(\frac{j_{LI}+k_L}{j_{LL}}\right)\left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)} \quad (5.9)$$

και

$$j_{N,A} = \frac{y_{N,L} N n_V k_L}{\left(\frac{j_{LI}+k_L}{j_{LL}}\right)\left(1 + \frac{j_{LC}}{k_C}\right) + \left(1 + \frac{j_{LI}}{k_R}\right)} \quad (5.10)$$

όπου, $y_{O,L}$ και $y_{N,L}$ είναι οι ποσότητες O_2 και NADPH που παράγονται σε κάθε κύκλο λειτουργίας της PSU, N ο αριθμός των PSUS του κυττάρου, n_V ο συντελεστής μετατροπής ανά βιομάζα, k_L και k_C , οι ρυθμοί λειτουργίας μιας PSU που εξυπηρετεί τη γραμμική και την κυκλική ροή ηλεκτρονίων αντίστοιχα, k_R ο ρυθμός επιδιόρθωσης των απενεργοποιημένων PSUS, j_{LL} και j_{LC} οι ειδικοί ρυθμοί δέσμευσης φωτονίων που επενδύονται στη γραμμική και στην κυκλική ροή ηλεκτρονίων αντίστοιχα και j_{LI} ο ειδικός ρυθμός δέσμευσης φωτονίων που προκαλούν την απενεργοποίηση των PSUS.

Στο δεύτερο μετασχηματισμό, το διοξείδιο του άνθρακα και το NADPH είναι συμπληρωματικά υποστρώματα που δεσμεύονται παράλληλα [91, 132]. Σύμφωνα με αυτόν το κανόνα μετασχηματισμού, από την εξίσωση (5.24) προκύπτει ότι ο ειδικός ρυθμός αυτοτροφικής αφομοίωσης j_A δίνεται από την εξίσωση

$$j_A = y_{V,A} \frac{1}{k_2^{-1} + (\rho_{IC} j_{IC})^{-1} + (\rho_N j_{N,A})^{-1} - (\rho_{IC} j_{IC} + \rho_N j_{N,A})^{-1}}, \quad (5.11)$$

όπου, j_{IC} και $j_{N,A}$ είναι, αντίστοιχα, οι ειδικοί ρυθμοί άφιξης του IC και του NADPH, ρ_{IC} και ρ_N είναι οι πιθανότητες δέσμευσής τους και k_2 είναι ο ρυθμός επεξεργασίας τους. Ο ειδικός ρυθμός άφιξης του IC δίνεται από τη σχέση $j_{IC} = a_{IC} X_{IC}$, όπου a_{IC} είναι ο ειδικός ως προς τη βιομάζα ρυθμός άφιξης του διαλυμένου ανόργανου άνθρακα.

5.2.3 Διατήρηση

Η διαδικασία της διατήρησης περιλαμβάνει τη διατήρηση των συστατικών των χυταρικών μεμβρανών και την ανανέωση των δομικών χυταρικών πρωτεΐνων. Τα κόστη διατήρησης θεωρούνται ανάλογα της βιομάζας, επομένως η ειδική ροή διατήρησης $j_{V,M}$ δίνεται από την εξίσωση

$$j_{V,M} = k_M, \quad (5.12)$$

όπου ο συντελεστής του ρυθμού διατήρησης k_M υποδηλώνει την ποσότητα των mol που απαιτούνται για τη διατήρηση ενός mol δομικής βιομάζας. Επειδή, στην παρούσα μελέτη, παραλείψαμε τα ενεργειακά αποθέματα η διατήρηση καλύπτεται από τη δομική βιομάζα. Η βιομάζα που επενδύεται στη διατήρηση χρησιμοποιεί οξυγόνο και παράγει θρεπτικά συστατικά (CO_2) για τη φωτοαυτοτροφία. Οι συνακόλουθες ειδικές ροές του διαλυμένου ανόργανου άνθρακα και του οξυγόνου είναι ανάλογες του συντελεστή του ρυθμού διατήρησης και δίνονται από τις εξισώσεις:

$$j_{IC,M} = y_{IC,V} k_M \quad (5.13)$$

και

$$j_{O,M} = y'_{O,V} k_M, \quad (5.14)$$

όπου $y_{IC,V}$ και $y'_{O,V}$ είναι, αντίστοιχα, οι ποσότητες του παραγόμενου διοξειδίου του άνθρακα και του καταναλισκόμενου οξυγόνου, ανά μοναδιαία ποσότητα βιομάζας που επενδύεται στη διατήρηση.

5.2.4 Ανάπτυξη

Τα θρεπτικά συστατικά μετατρέπονται μέσω της φωτοαυτοτροφίας σε προϊόντα αφομοίωσης. Επιπλέον, τα οργανικά προϊόντα που παράγονται από τη βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ένωσης συνεισφέρουν στην ανάπτυξη. Κατά το μετασχηματισμό των ουσιών αυτών σε βιομάζα, πληρώνονται θερμοδυναμικά κόστη αναβάθμισης. Επιπρόσθετα του βασικού κόστους ανάπτυξης y^0 , θεωρούμε ότι υπάρχουν κόστη που σχετίζονται με τη δημιουργία και την αναβάθμιση των μηχανισμών αφομοίωσης και αποικοδόμησης [173]. Τα τελευταία κόστη θεωρούνται ανάλογα της δεκτικότητας ρ_A και ρ_P που εμφανίζουν τα αντίστοιχα υποστρώματα. Ποσοτικοποιήσαμε αυτά τα κόστη με το συντελεστή απόδοσης Y (ποσότητα του συνολικού προϊόντος της αφομοίωσης που απαιτείται για να σχηματιστεί η μοναδιαία ποσότητα βιομάζας):

$$Y = y^0 + y^A \rho_A + y^D \rho_P \quad (5.15)$$

Διαφορετικές τιμές της παραμέτρου y^D αντιστοιχούν σε διαφορετικές ενεργειακές απαιτήσεις για τη βιοαποικοδόμηση της εκάστοτε φαινολικής ένωσης από το μικροφύκος [134]. Μετά την ενσωμάτωση του συνολικού κόστους αναβάθμισης, και του κόστους διατήρησης, λαμβάνοντας υπόψη την πειραματική μαρτυρία ότι η επεξεργασία της φαινολικής ένωσης γίνεται παράλληλα και ανεξάρτητα από τη διαδικασία της φωτοαυτοτροφικής αφομοίωσης, προκύπτει ότι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης δίνεται από την εξίσωση

$$j_{V,G} = \frac{j_A + j_{V,D}}{Y} - j_{V,M}, \quad (5.16)$$

όπου οι ειδικές ροές $j_{V,D}$, j_A και $j_{V,M}$ δίνονται από τις εξισώσεις (5.8), (5.11) και (5.12), αντίστοιχα.

5.2.5 Θνησιμότητα

Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την κυτταρική αναπνοή προκαλούν ανεπανόρθωτη ζημιά στο DNA του οργανισμού και έχουν άμεση σχέση με τη γήρανσή του [91]. Ο στιγμιαίος ρυθμός θανάτου των κυττάρων h θεωρήθηκε σταθερός στη παρούσα μελέτη, δηλαδή:

$$J_{V,H} = h, \quad (5.17)$$

Η θνησιμότητα λόγω μη διαθεσιμότητας θρεπτικών ή φωτός λαμβάνεται υπόψη από το μοντέλο. Αυτό συμβαίνει όταν ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης είναι αρνητικός όπως προκύπτει από την εξίσωση 5.16. Άλλες αιτίες θανάτου των υπό μελέτη μικροοργανισμών, όπως η θήρευση, αγνοούνται επειδή μελετούμε αξενικές καλλιέργειες μικροοργανισμών.

5.3 Αποτελέσματα

Η βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ουσιών από τα μικροφύκη συμβαίνει σε αερόβιες συνθήκες. Το απαιτούμενο οξυγόνο, για τη βιοαποικοδόμηση, παρέχεται φωτοσυνθετικά. Το σύστημα μελετήθηκε σε φωτοαυτοτροφικές συνθήκες για διαφορετικές τιμές της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας. Οι αριθμητικές προσομοιώσεις συνεχίστηκαν μέχρι να αποκοδομηθεί πλήρως η ποσότητα της φαινολικής ένωσης, χρησιμοποιώντας τις παραμετρικές τιμές που παρατίθενται στο Πίνακα 5.3. Η δυναμική του συστήματος περιγράφεται από τις εξισώσεις (5.1)–(5.4).

Η ποσότητα της αποκοδομούμενης φαινολικής ουσίας μειώνεται, μη γραμμικά, με το χρόνο (Σχήμα 5.2A). Ο ειδικός ρυθμός μείωσης (Σχήμα 5.3A) είναι μέγιστος στην έναρξη της βιοαποικοδόμησης λόγω αφθονίας της αποκοδομούμενης ουσίας, διατηρείται υψηλός μέχρι να υποδιπλασιαστεί η συγκέντρωση της φαινολικής ουσίας ενώ στη συνέχεια φθίνει, τείνοντας ασυμπτωτικά στο μηδέν στο τέλος της διαδικασίας λόγω έλλειψης αποκοδομούμενης ουσίας. Ο ειδικός ρυθμός βιοαποικοδόμησης παραμένει υψηλός και μειώνεται αργά στην ενδιάμεση φάση της βιοαποικοδόμησης

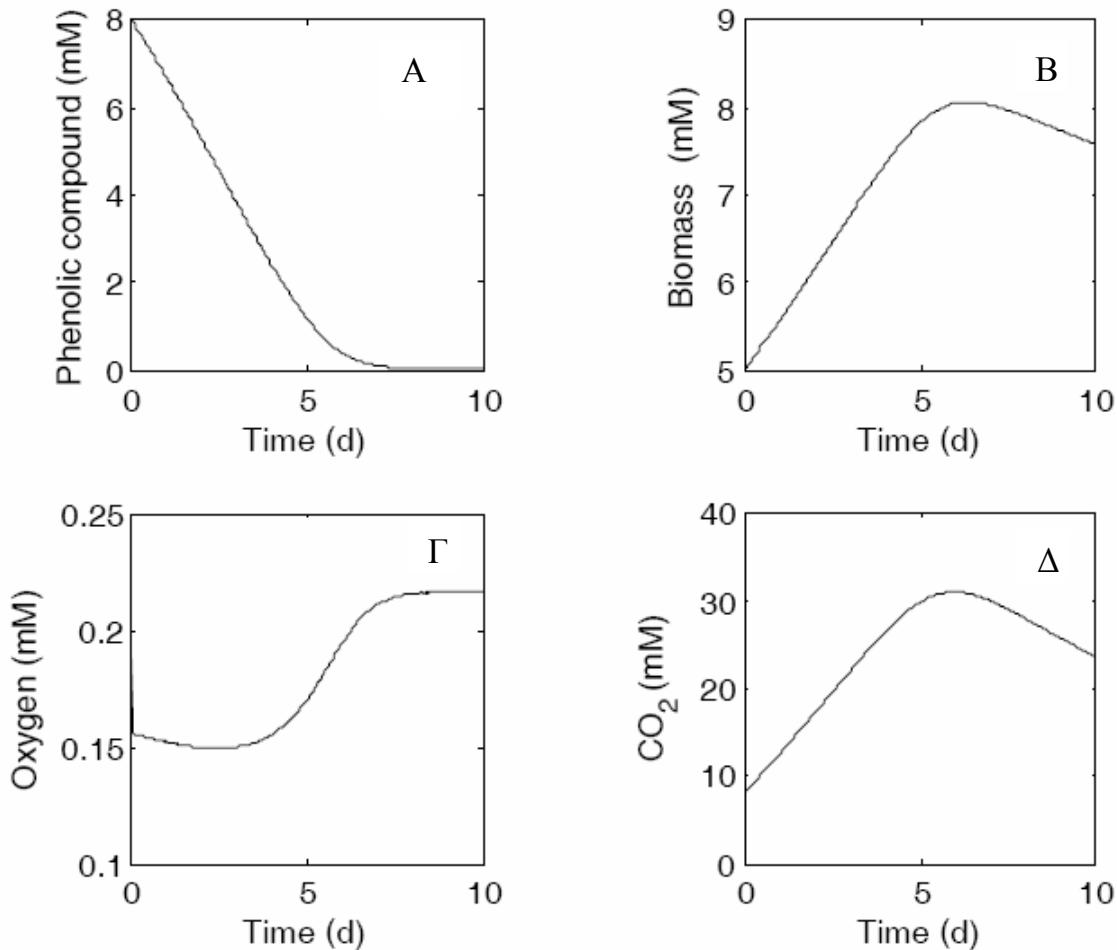
Πίνακας 5.3: Πίνακας τιμών των παραμέτρων του μοντέλου. Όλες οι συγκεντρώσεις των ουσιών που περιέχουν άνθρακα είναι εκφρασμένες σε mol C. Οι πηγές και ο καθορισμός των τιμών των παραμέτρων δίνονται στο Παράρτημα B

| Αρχικές συγκεντρώσεις (σε mM) | | | | | | | |
|---|-------------------|------------|--------------------|-------------|--|------------|--|
| X_P | 5 | X_O | 0.2 | X_{IC} | 8 | X_V | 5 |
| <i>Παράμετροι άφιξης (σε L (μmolV)$^{-1}$ d$^{-1}$)</i> | | | | | | | |
| a_P | 10^{-3} | a_O | 10^{-2} | a_{IC} | $4 \cdot 10^{-3}$ | | |
| <i>Πιθανότητες δέσμευσης (αδιάστατες)</i> | | | | | | | |
| ρ_P | 0.2 | ρ_O | 0.8 | ρ_{IC} | 0.5 | ρ_N | 0.9 |
| <i>Στοιχειομετρικοί συντελεστές (σε mol/mol)</i> | | | | | | | |
| $y'_{O,P}$ | 4.45 | $y_{IC,P}$ | 4.6 | $y_{V,P}$ | 1.4 | $y'_{O,V}$ | 1.0 |
| $y_{IC,V}$ | 1.0 | $y_{V,A}$ | 1.0 | | | | |
| <i>Ρυθμοί επεξεργασίας (σε d$^{-1}$)</i> | | | | | | | |
| k_1 | 0.4 | k_2 | 1.0 | | | | |
| <i>Κόστη αναβάθμισης (σε mol/mol)</i> | | | | | | | |
| y^A | 2.0 | y^D | 4.0 | y^0 | 1.0 | | |
| <i>Άλλες παράμετροι</i> | | | | | | | |
| X_{OS} | 0.2 (mM) | K_O | 100 (d $^{-1}$) | N | $1 \cdot 10^6$ | $y_{O,L}$ | $0.167 \cdot 10^{-5} \frac{\text{amol O}_2}{\text{PSU}}$ |
| k_M | 0.02 (d $^{-1}$) | h | 0.001 (d $^{-1}$) | n_V | $5 \cdot 10^7 \frac{\text{cells}}{\mu\text{molV}}$ | $y_{N,L}$ | $0.334 \cdot 10^{-5} \frac{\text{amol NADPH}}{\text{PSU}}$ |

(Σχήμα 5.3Α) λόγω της αυξημένης διαθεσιμότητας οξυγόνου που παράγεται από την αυξανόμενη βιομάζα των μικροφυκών (Σχήμα 5.2Β) δεδομένου ότι τα επίπεδα της συγκέντρωσης οξυγόνου (Σχήμα 5.2Γ) παραμένουν ιδιαιτέρως χαμηλά σε αυτή τη φάση της βιοαποικοδόμησης.

Η αύξηση της βιομάζας (Σχήμα 5.2Β) ακολουθεί την αύξηση της συγκέντρωσης του διοξειδίου του άνθρακα (Σχήμα 5.2Δ), υποδηλώνοντας ότι η ανάπτυξη υποστηρίζεται χυρίως από τη φωτοσύνθεση (Σχήμα 5.2Γ) και λιγότερο από τη βιοαποικοδόμηση (Σχήμα 5.2Α). Για τον ίδιο λόγο η ποσότητα βιομάζας ακολουθεί τη μείωση της συγκέντρωσης του διοξειδίου του άνθρακα ενώ ταυτόχρονα ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης (Σχήμα 5.3Β) που μειώνονταν με την πάροδο του χρόνου παίρνει πλέον αρνητικές τιμές.

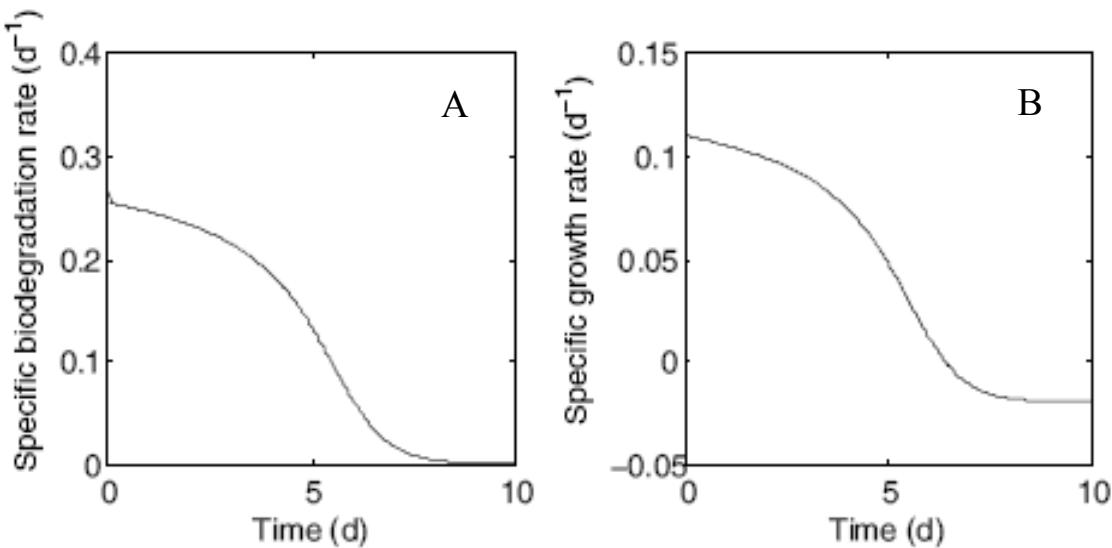
Η αρχική συγκέντρωση της φαινολικής ουσίας δεν επηρεάζει το πρότυπο της βιοαποικοδόμησής της (Σχήμα 5.4Α), όμως, όταν αυξάνεται η αρχική συγκέντρωση της φαινολικής ουσίας μεγαλώνει και το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την πλήρη βιοαποικοδόμησή της. Ταυτόχρονα, η αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης της φαινολικής ουσίας προκαλεί μεγαλύτερη βύθιση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου, τόσο στην έναρξη της βιοαποικοδόμησης όσο και στην ενδιάμεση φάση της (Σχήμα 5.4Γ) λόγω των αυξημένων απαιτήσεων για οξυγόνο, ενώ είναι πιο απότομη η ανάκαμψη



Σχήμα 5.2: Χρονική εξέλιξη των προφίλ συγκέντρωσης για τη φαινολική ουσία (Α), τη βιομάζα (Β), το διαλυμένο οξυγόνο (Γ) και το διαλυμένο ανόργανο άνθρακα (Δ) σε φωτεινή ένταση $I=100 \mu\text{mol h} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Τα κύτταρα αναπτύσσονται με μοναδική πηγή οργανικού άνθρακα τη φαινολική ουσία. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 5.3.

της συγκέντρωσης διαλυμένου οξυγόνου στο τέλος της βιοαποικοδόμησης λόγω της αυξημένης ποσότητας οξυγόνου που παράγεται φωτοσυνθετικά από την αυξημένη βιομάζα των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών (Σχήμα 5.4Β). Το τελευταίο αποτέλεσμα δείχνει ότι η φαινολική ουσία συμμετέχει στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών τόσο άμεσα (αυξημένη συγκέντρωση φαινολικής ουσίας συνεπάγεται αυξημένη διαθεσιμότητα άνθρακα) όσο και έμμεσα λόγω της αυξημένης παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα από την αυξημένη αναπνοή (Σχήμα 5.4Γ,Δ).

Για τις παραμετρικές τιμές που χρησιμοποιήθηκαν στις προσομοιώσεις, η τιμή της έντασης της φωτεινής ακτινοβολίας δεν επηρεάζει σημαντικά τη βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ουσίας (Σχήμα 5.5Α). Απεναντίας, είναι εμφανές το φαινόμενο της φωτοαναστολής όπως φαίνεται στα Σχήματα 5.5Β,Γ,Δ. Δηλαδή, η αυξανόμενη βύθιση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου, για ίδια αρχική συγκέντρωσης φαινολικής ουσίας, (Σχήμα 5.5Γ) με την αύξηση της φωτεινής έντασης από

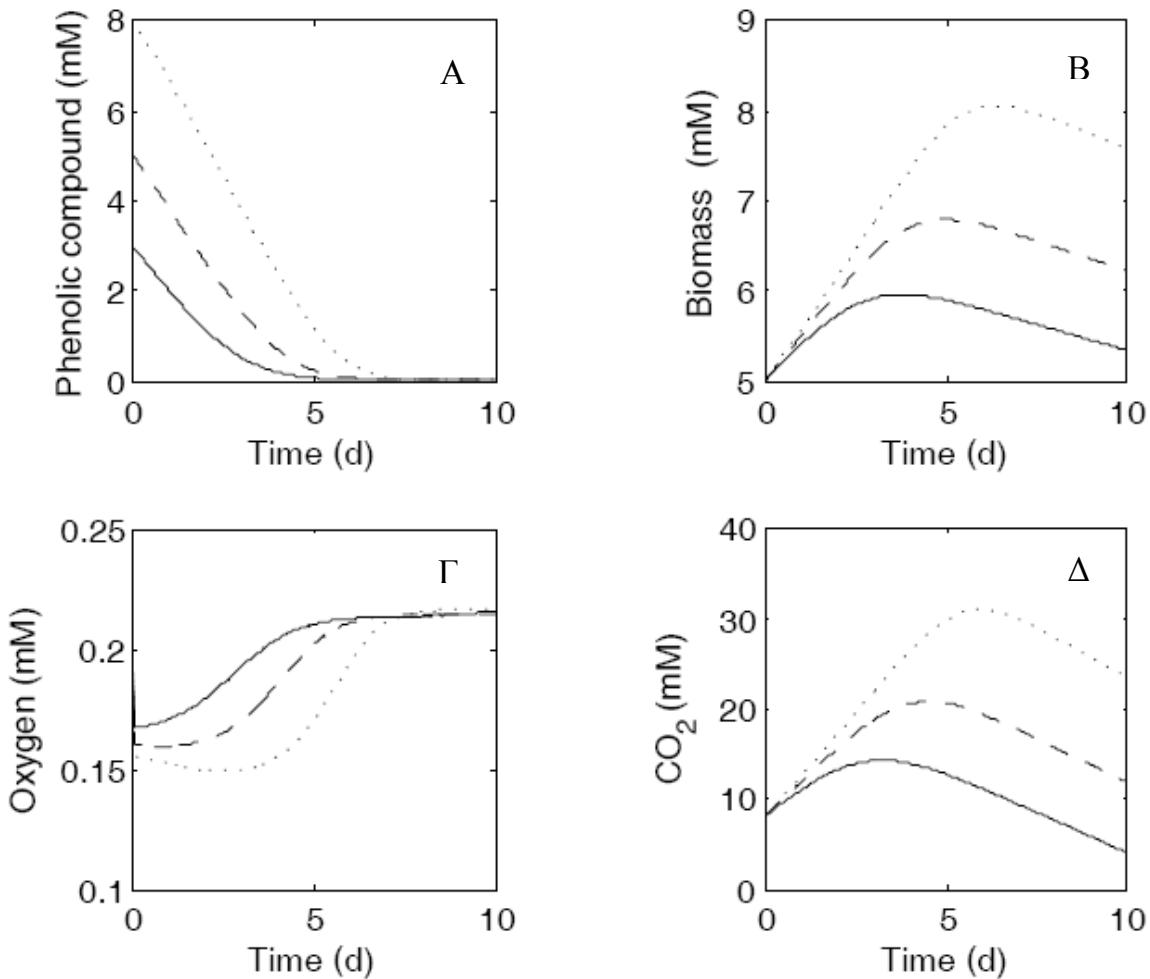


Σχήμα 5.3: Ειδικοί ρυθμοί βιοαποικοδόμησης (A) και ανάπτυξης (B) στη χρονική διάρκεια της βιοαποικοδόμησης, σε φωτεινή ένταση $I=100 \mu\text{mol h}^{-1} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Τα κύτταρα αναπτύσσονται με μοναδική πηγή οργανικού άνθρακα τη φαινολική ουσία. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 5.3.

τα $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες) στα $500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες και παύλες), στα $1000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (γραμμή με παύλες) και στα $2000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (συνεχής γραμμή), που δεν ανακάμπτει ούτε μετά το τέλος της βιοαποικοδόμησης (Σχήμα 5.5Γ). Ταυτόχρονα, η συγκέντρωση του διαλυμένου διοξειδίου του άνθρακα αυξάνεται αρκετά (Σχήμα 5.5Δ) με την αύξηση της φωτεινής έντασης που σημαίνει ότι ο φωτοσυνθετικός οργανισμός δεν μπορεί να το αξιοποιήσει ικανοποιητικά, λόγω φωτοαναστολής, κάτι που φαίνεται και από την πολύ μικρή διαφορά στην βιομάζα του (Σχήμα 5.5Β).

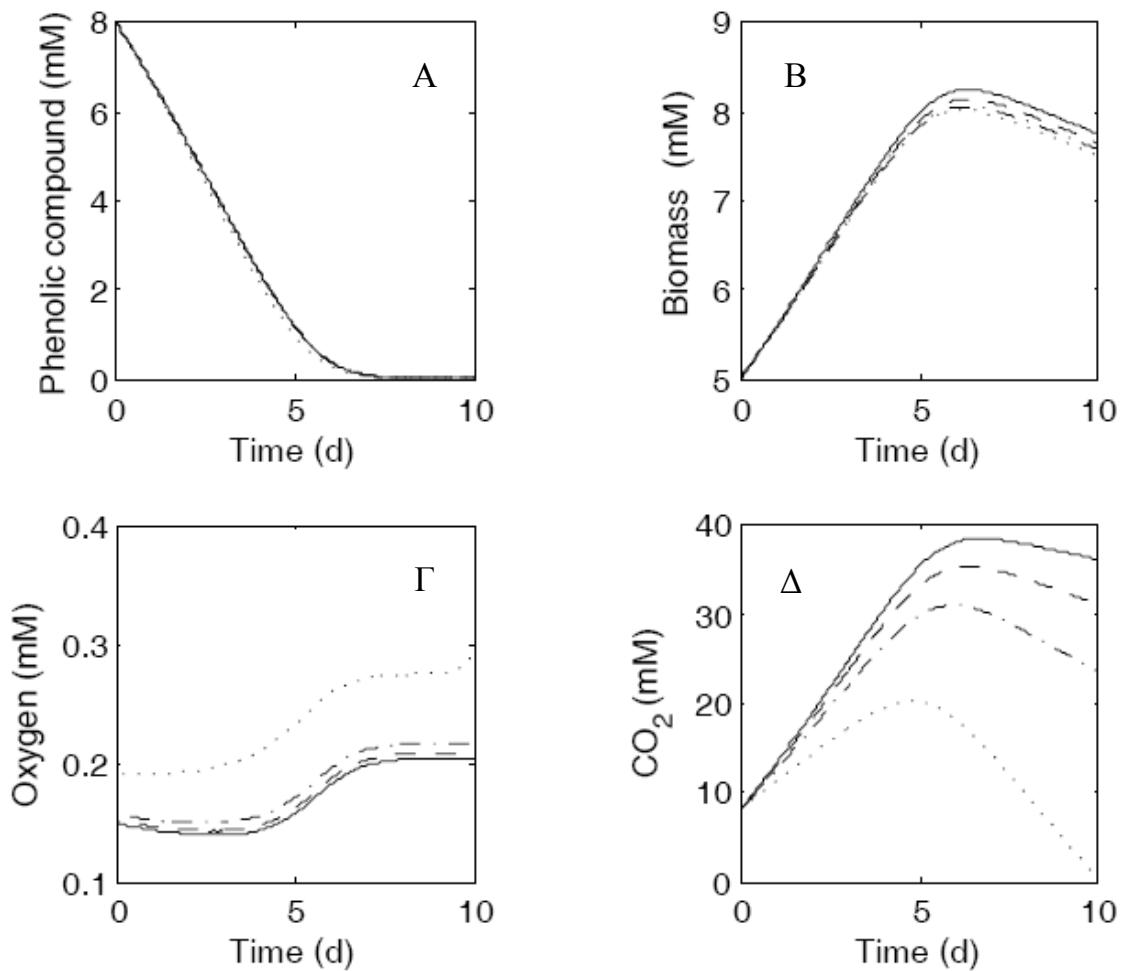
5.4 Συζήτηση

Αναπτύξαμε ένα μηχανιστικό δυναμικό μοντέλο για την αερόβια βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς βασισμένοι στην έννοια της φωτοσυνθετικής μονάδας. Σύμφωνα με αυτή την έννοια, ποσοτικοί οι ρυθμοί άφιξης των υποστρωμάτων και όχι οι συγκεντρώσεις τους. Αυτό μας επιτρέπει να χειρίστούμε το φως όπως χειριζόμαστε και κάθε άλλο θρεπτικό συστατικό, κάτι τέτοιο βέβαια όταν αδύνατο αν δουλεύαμε με συγκεντρώσεις. Επίσης, μας παρέχει τη δυνατότητα να συμπεριλάβουμε την αφομοίωση πολλαπλών υποστρωμάτων, να συμπεριλάβουμε διαφορετικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υποστρωμάτων ή και μεταξύ των προϊόντων διαφορετικών βιοχημικών διεργασιών. Το παρόν μοντέλο είναι ικανό να κάνει προβλέψεις σε περιοριστικές συνθήκες οξυγόνου και ανόργανου άνθρακα. Αν και ο ρύπος που μοντελοποιήθηκε ήταν μια φαινολική ουσία, το μοντέλο μπορεί να εφαρμοστεί και για τη βιοαποικοδόμηση οποιασδήποτε αρωματικής ουσίας στην οποία εμπλέκονται οξυγενάσεις. Για τις παραμετρικές τιμές



Σχήμα 5.4: Χρονική εξέλιξη των προφίλ συγκέντρωσης για τη φαινολική ουσία (Α), τη βιομάζα (Β), το διαλυμένο οξυγόνο (Γ) και το διαλυμένο ανόργανο άνθρακα (Δ), για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις της φαινολικής ουσίας. Συνεχόμενη γραμμή: 2mM, γραμμή με παύλες: 5mM, γραμμή με τελείες: 8mM. Τα κύτταρα αναπτύσσονται σε φωτεινή ένταση $I=500 \mu\text{mol h}^{-2} \text{s}^{-1}$, με μοναδική πηγή οργανικού άνθρακα τη φαινολική ουσία. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 5.3.

που χρησιμοποιήσαμε στις προσομοιώσεις, παρατηρήσαμε αύξηση της βιομάζας στη διάρκεια της βιοαποικοδόμησης και μια αναμενόμενη διαφορά (μικρή αύξηση) όταν αυξάνουμε την αρχική συγκέντρωση της φαινολικής ουσίας, σε ίδια φωτεινή ένταση, ή όταν αυξάνουμε τη φωτεινή ένταση, για ίδια αρχική συγκέντρωση της φαινολικής ουσίας. Οι μικρές διαφορές στην περίπτωση των διαφορετικών αρχικών συγκεντρώσεων της φαινολικής ουσίας οφείλονται στο υψηλό κόστος που πληρώνει ο φωτοσυνθετικός μικροοργανισμός για τη βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ουσίας με αποτέλεσμα σχεδόν να ισοσταθμίζεται το κέρδος που έχει από την αυξημένη διαθεσιμότητα άνθρακα. Στην περίπτωση των διαφορετικών φωτεινών εντάσεων οι μικρές διαφορές στην αύξηση της βιομάζας οφείλονται στο φαινόμενο της φωτοαναστολής που καθιστά ανίκανο το φωτοσυνθετικό οργανισμό να εκμεταλλευτεί ικανοποιητικά την αυξημένη διαθεσιμότητα φωτός. Η βιοαποικοδόμηση της φαινολικής ουσίας και η ανάπτυξη των μικροοργανισμών θα μπορούσε να ενισχυθεί, παρουσία φωτός, με την προσθήκη εξωγενούς διαλυμένου ανόργανου άνθρακα, όπως CO₂ και NaHCO₃. Το μοντέλο



Σχήμα 5.5: Χρονική εξέλιξη των προφίλ συγκέντρωσης για τη φαινολική ουσία (Α), τη βιομάζα (Β), το διαλυμένο οξυγόνο (Γ) και το διαλυμένο ανόργανο άνθρακα (Δ) σε διαφορετικές φωτεινές εντάσεις $I=100 \text{ } \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες), $I=500 \text{ } \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με τελείες και παύλες), $I=1000 \text{ } \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (γραμμή με παύλες), $I=2000 \text{ } \mu\text{mol h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (συνεχής γραμμή). Τα κύτταρα αναπτύσσονται με μοναδική πηγή οργανικού άνθρακα τη φαινολική ουσία που έχει αρχική συγκέντρωση 8 mM . Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές παρατίθενται στον πίνακα 5.3.

λαμβάνει υπόψη τις διαφορετικές ικανότητες δέσμευσης και τις διαφορετικές ενεργειακές απαιτήσεις για τη βιοαποικοδόμηση διαφορετικών φαινολικών ουσιών, καθιστώντας το ικανό να προβλέπει διαφορετικά αναπτυξιακά πρότυπα.

Τα αποτελέσματα του μοντέλου είναι σε συμφωνία με πειραματικές μελέτες που επιβεβαιώνουν ότι πολλοί φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται στο φώς, με μοναδική πηγή οργανικού άνθρακα φαινολικές ενώσεις [103, 134, 140, 158]. Οι ρυθμοί ανάπτυξης εξαρτώνται από το είδος του μικροοργανισμού, το είδος της φαινολικής ουσίας και τις συνθήκες ανάπτυξης. Οι Semple και Cain (1996) αναφέρουν ότι το μικροφύκος *Ochromonas danica*, ένα φυσιολογικά μικτότροφο χρυσόφυτο, είναι ικανό να μεταβολίζει πλήρως τη φαινόλη στο σκοτάδι με το 20% του άνθρακα να εμφανίζεται στη βιομάζα. Τα πειράματά τους επιβεβαιώνουν ότι η φαινόλη ήταν η πηγή άνθρακα του *Ochromonas danica* τόσο για την αφομοίωση όσο και για της οξείδωση προς παραγωγή CO₂. Οι Papazi και Kotzabasis (2007) χρησιμοποίησαν σε πειράματα τους καλ-

λιέργειες του μονοκύτταρου μικροφύκους *Scenedesmus obliquus* που αναπτύχθηκαν στο φως και βρήκαν διαφορετικούς ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης (που χυμαίνονταν από 0.52 έως 6.20 mg/day σε μη περιοριστικό CO₂) για διαφορετικές φαινολικές ουσίες (φαινόλη, χλωροφαινόλες, βρωμοφαινόλες, ιωδοφαινόλες). Τα αποτελέσματα των πειραμάτων τους υποδηλώνουν ότι η βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ουσιών είναι μια πολύ ενεργοβόρα διαδικασία. Οι Petroutsos et al. (2007) βρήκαν ότι το πράσινο μικροφύκος *Tetraselmis marina*, έχει την ικανότητα να βιοαποικοδομεί τις χλωροφαινόλες όταν αναπτύσσεται στο φως, επιδεικνύοντας μεγαλύτερη ικανότητα στη βιοαποικοδόμηση της πάρα-χλωροφαινόλης, χωρίς όμως να πετυχαίνει τη μεγαλύτερη ανάπτυξη. Επιπλέον, βρήκαν ότι η όρθο-χλωροφαινόλη δεν επηρεάζει το ρυθμό ανάπτυξης, σε αντίθεση με τη μέτα-χλωροφαινόλη και την πάρα-χλωροφαινόλη που μειώνουν τη συγκέντρωση βιομάζας. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί λόγω της υψηλότερης ενέργειας διάσπασης της μέτα-θέσης του αλογόνου σε σχέση με την όρθο- και πάρα-θέση [134]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η βιοαποικοδόμηση της πάρα-χλωροφαινόλης ενισχύεται με την αύξηση της φωτεινής έντασης ή της συγκέντρωσης του NaHCO₃ [140]. Και οι δύο μελέτες [134, 140], υποστηρίζουν τα ευρήματα μας ότι η βιοαποικοδόμηση είναι ταχύτερη όταν αυξάνεται η διαθεσιμότητα οξυγόνου. Αν και οι περισσότερες πειραματικές μελέτες για τη βιοαποικοδόμηση φαινολικών ενώσεων αφορούν διαφορετικά είδη μικροοργανισμών, τα αποτελέσματα τους για την αερόβια βιοαποικοδόμηση μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην επαλήθευση των ευρημάτων του μοντέλου, λόγω των κοινών μεταβολικών μονοπατιών που χρησιμοποιούν αυτοί οι μικροοργανισμοί για το μεταβολισμό των φαινολικών ουσιών. Τα ευρήματα του μοντέλου δείχνουν ότι το οξυγόνο είναι περιοριστικός παράγοντας στη βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ουσιών από τα μικροφύκη. Τα τυπικά χαρακτηριστικά του προφίλ του διαλυμένου οξυγόνου στις προσομοιώσεις μας, δηλαδή, χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου στην ενδιάμεση φάση της βιοαποικοδόμησης και απότομη άνοδος της συγκέντρωσης του οξυγόνου αμέσως μετά την ολοκλήρωσή της βιοαποικοδόμησης, έχουν παρατηρηθεί και πειραματικά [34, 48, 161, 162]. Στα πειράματα τους οι Melo et al. (2005), χρησιμοποίησαν ενεργοποιημένα λύματα για να μελετήσουν την αποικοδόμηση της φαινόλης σε σχέση με τη διαθεσιμότητα οξυγόνου σε κλειστούς βιοαντιδραστήρες, και απέδειξαν ότι οι επιδόσεις του συστήματος βελτιώθηκαν με την αύξηση της διαθεσιμότητας οξυγόνου και ότι το διαλυμένο οξυγόνο μηδενίζονταν όσο διαρκούσε η παρουσία της φαινόλης. Το διαλυμένο οξυγόνο εμφανίζονταν στην καλλιέργεια μόνο μετά την πλήρη κατανάλωση της φαινόλης, αποδεικνύοντας ότι η έλλειψη οξυγόνου θα αποτελούσε περιοριστικό παράγοντα στην αποικοδόμηση της φαινόλης. Στην παρούσα μελέτη εστιάσαμε στην ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών κατά τη βιοαποικοδόμηση φαινολικών ουσιών. Το μοντέλο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην προσέγγιση των βέλτιστων συνθηκών για τη βιοαποικοδόμηση των φαινολικών ουσιών από αξενικές καλλιέργειες ή από καλλιέργειες διαφορετικών μικροοργανισμών. Ένεκα της γενικότητας της

προσέγγισης το παρόν μοντέλο θα μπορούσε να επεκταθεί σε διάφορες κατευθύνσεις, όπως είναι η αυτο-αναστολή της βιοαποικοδόμησης σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις της φαινολικής ουσίας, η βιοαποικοδόμηση μίγματος φαινολικών ουσιών, ή η βιοαποικοδόμηση φαινολικών ουσιών από μίγμα μικροοργανισμών (μικροφύκη και βακτήρια). Επιπλέον, το αποτέλεσμα του μοντέλου ότι κατά τη διάρκεια της βιοαποικοδόμησης επικρατούν σχεδόν ανοξιές συνθήκες, σε συνδυασμό με το γνωστό φαινόμενο παραγωγής υδρογόνου από τα μικροφύκη [56], μας εμπνέει για μια μελλοντική μελέτη προκειμένου να δομήσουμε ένα μηχανιστικό μαθηματικό μοντέλο για τη φωτοσυνθετική παραγωγή υδρογόνου.

Παράρτημα A

Στο παράρτημα παρατίθεται το γνωστικό υπόβαθρο που χρησιμοποιήσαμε στο μοντέλο της βιοαποικοδόμησης των φαινολικών ενώσεων και της φωτοαυτοτροφικής αφομοίωσης. Οι διαδικασίες ποσοτικοποιήσης με τη χρήση των συνθετικών μονάδων (SUS) [90, 91]. Οι SUS είναι γενικευμένα ένζυμα που μετασχηματίζουν τις ροές άφιξης των υποστρωμάτων σε ροές προϊόντων. Στη συνέχεια θα αναπτύξουμε μόνο τις μεθόδους που εμπλέκουν δύο υποστρώματα και χρησιμοποιήσης στην παρούσα μελέτη. Οι διαδικασίες μετασχηματισμού κατατάσσονται ανάλογα με το σχετικό ρόλο των υποστρωμάτων στην παραγωγή προϊόντων και την αλληλεπίδρασή τους στο επίπεδο της δέσμευσης ή/και της παραγωγής. Δύο υποστρώματα A και B χαρακτηρίζονται υποκαθιστούμενα όταν μπορεί το καθένα χωριστά να μετασχηματιστεί σε ένα προϊόν C και συμπληρωματικά όταν και τα δύο είναι απαραίτητα για να παραχθεί το προϊόν C . Τόσο τα υποκαθιστούμενα όσο και τα συμπληρωματικά υποστρώματα ταξινομούνται σύμφωνα με την παρουσία ή την απουσία αλληλεπίδρασης στο επίπεδο της δέσμευσης ή της επεξεργασίας. Αν δεν υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο υποστρωμάτων, έχουμε παράλληλο μετασχηματισμό. Αν η δέσμευση του ενός υποστρώματος αλληλεπιδρά με τη δέσμευση του άλλου έχουμε σειριακό μετασχηματισμό. Όταν ένα μόριο υποστρώματος φτάνει στην SU, έχει πιθανότητα ρ να δεσμευτεί από την SU. Η πιθανότητα αυτή εξαρτάται από την κατάσταση της SU. Για κάθε υπόστρωμα υπάρχουν τρείς δυνατότητες όσο αφορά τη δυνατότητα δέσμευσής του. Για το υπόστρωμα A : (1) 0 αν το A είναι ήδη δεσμευμένο, (2) ρ_A αν δεν είναι δεσμευμένο ούτε το A ούτε το B , και (3) ρ_{AB} αν το B είναι ήδη δεσμευμένο αλλά δεν είναι δεσμευμένο το A . Όμοια για το υπόστρωμα B : (1) 0 αν είναι δεσμευμένο το B , (2) ρ_B αν τόσο το B όσο και το A δεν είναι δεσμευμένα, και (3) ρ_{BA} αν το A είναι ήδη δεσμευμένο αλλά δεν έχει δεσμευτεί το B . Όταν δύο υποστρώματα A και B μπορούν να δεσμευτούν από μια SU, οι πιθανές καταστάσεις της SU είναι τέσσερις. Αν η SU είναι ελεύθερη (SU..), δηλαδή δεν έχει δεσμευμένο ούτε υπόστρωμα A ούτε υπόστρωμα B , έχει τη δυνατότητα να δεσμεύσει είτε το υπόστρωμα A είτε το υπόστρωμα B περνώντας στην κατάσταση SU_A ή στην κατάσταση SU_B , αντίστοιχα. Οι παραπάνω SUS μπορούν στη συνέχεια να επιστρέψουν στην κατάσταση SU.. σχηματίζοντας το προϊόν C ή να δεσμένουν το υπόστρωμα που λείπει και να μεταβούν στην κατάσταση SU_{AB} . Η μετάβαση από τη μία κατάσταση στην άλλη εξαρτάται από τον τύπο του μετασχηματισμού των δύο υποστρωμάτων. Μετά τη δέσμευση των απαιτούμενων υποστρωμάτων, η SU περνά στο στάδιο παραγωγής. Αν για την παραγωγή του C χρησιμοποιήθηκε μόνο το υπόστρωμα A ή μόνο το υπόστρωμα B , οι ρυθμοί επεξεργασίας τους συμβολίζονται με k_A και k_B , αντίστοιχα. Αν τόσο το A όσο και το B είναι απαραίτητα για το σχηματισμό του C , ο ρυθμός επεξεργασίας συμβολίζεται με k . Όταν σχηματιστεί το προϊόν, η SU είναι έτοιμη να δεσμεύσει ξανά άλλα μόρια υποστρωμάτων. Οι δυναμικές των ποσοστών των SU

που βρίσκονται στις διαφορετικές καταστάσεις εξαρτώνται από τους τύπους των μετασχηματισμών των δύο υποστρωμάτων.

Συμπληρωματικός – σειριακός μετασχηματισμός

Σε αυτόν τον τύπο μετασχηματισμού αμφότερα τα υποστρώματα A και B απαιτούνται για να παραχθεί το προϊόν C , δηλαδή $y'_{AC}A + y'_{BC}B \rightarrow y_C^+C$, αλλά το υπόστρωμα B δεν μπορεί να δεσμευτεί από την SU αν δεν έχει ήδη δεσμευτεί το υπόστρωμα A . Οι δυνατές καταστάσεις της SU είναι: $SU_{..}$, $SU_A.$, και SU_{AB} , επομένως, οι δυναμικές των ποσοστών των SU για αυτό το μετασχηματισμό δίνονται από τις διαφορικές εξισώσεις

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}\theta_{..} &= -\rho_A j_A \theta_{..} + k \theta_{AB} \\ \frac{d}{dt}\theta_A. &= \rho_A j_A \theta_{..} - \rho_B j_B \theta_A. \\ \frac{d}{dt}\theta_{AB} &= \rho_B j_B \theta_A. - k \theta_{AB} \\ \theta_{..} + \theta_A. + \theta_{AB} &= 1 \end{aligned} \tag{5.18}$$

όπου τα j_A και j_B παριστάνουν τους ρυθμούς άφιξης των υποστρωμάτων A και B, αντίστοιχα. Τα $\theta_{..}$, $\theta_A.$, και θ_{AB} υποδηλώνουν τα ποσοστά των SU που βρίσκονται στις αντίστοιχες καταστάσεις. Σύμφωνα με τους Brandt et al. (2003), η λύση του συστήματος (5.18) σε κατάσταση ψευδο-ισορροπίας δίνεται από τις εξισώσεις

$$\begin{aligned} \theta_{..}^{ss} &= k \rho_B j_B (\rho_A j_A \rho_B j_B + k(\rho_A j_A + \rho_B j_B))^{-1} \\ \theta_A.^{ss} &= k \rho_A j_A (\rho_A j_A \rho_B j_B + k(\rho_A j_A + \rho_B j_B))^{-1} \\ \theta_{AB}^{ss} &= \rho_A j_A \rho_B j_B (\rho_A j_A \rho_B j_B + k(\rho_A j_A + \rho_B j_B))^{-1} \end{aligned} \tag{5.19}$$

Οι ρυθμοί μετασχηματισμού των υποστρωμάτων A και B (j_A^+ και j_B^+) και ο αντίστοιχος ρυθμός παραγωγής του προϊόντος (j_C) δίνονται από τις εξισώσεις:

$$j_A^+ = y'_{AC} k \theta_{AB}^{ss}, \quad j_B^+ = y'_{BC} k \theta_{AB}^{ss}, \quad j_C = y_C^+ k \theta_{AB}^{ss} \tag{5.20}$$

Συμπληρωματικός – παράλληλος μετασχηματισμός

Σε αυτόν τον τύπο μετασχηματισμού αμφότερα τα υποστρώματα A και B είναι απαραίτητα για να παραχθεί το προϊόν C , δηλαδή $y'_{AC}A + y'_{BC}B \rightarrow y_C^+C$, αλλά δεν έχει σημασία η σειρά δέσμευσης των υποστρωμάτων. Οι δυνατές καταστάσεις των SU είναι: $SU_{..}$, $SU_A.$, $SU_{..B}$, και SU_{AB} . Οι δυναμικές

των ποσοστών των SUς για αυτόν τον τύπο μετασχηματισμού δίνονται από τις παρακάτω εξισώσεις

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}\theta_{..} &= -(\rho_A j_A + \rho_B j_B)\theta_{..} + k\theta_{AB} \\ \frac{d}{dt}\theta_A &= \rho_A j_A \theta_{..} - \rho_B j_B \theta_A \\ \frac{d}{dt}\theta_B &= \rho_B j_B \theta_{..} - \rho_A j_A \theta_B \\ \frac{d}{dt}\theta_{AB} &= \rho_B j_B \theta_A + \rho_A j_A \theta_B - k\theta_{AB} \\ \theta_{..} + \theta_A + \theta_B + \theta_{AB} &= 1\end{aligned}\tag{5.21}$$

όπου τα j_A και j_B υποδηλώνουν τους ρυθμούς άφιξης των υποστρωμάτων A και B, αντίστοιχα. Τα $\theta_{..}$, θ_A , θ_B , και θ_{AB} υποδηλώνουν τα ποσοστά των SU που βρίσκονται στις αντίστοιχες καταστάσεις. Η λύση του συστήματος (5.21) σε κατάσταση ψευδο-ισορροπίας δίνεται από τις εξισώσεις

$$\begin{aligned}\theta_{..}^{ss} &= k\rho_A j_A \rho_B j_B / \Theta \\ \theta_A^{ss} &= k\rho_A j_A \rho_B j_B / \Theta \\ \theta_B^{ss} &= k\rho_B j_B \rho_A j_A / \Theta \\ \theta_{AB}^{ss} &= \rho_A j_A \rho_B j_B (\rho_A j_A + \rho_B j_B) / \Theta\end{aligned}\tag{5.22}$$

$\Theta = k(\rho_B j_B + \rho_A j_A) \rho_A j_A + \rho_B j_B (k\rho_B j_B + (\rho_A j_A + \rho_B j_B) \rho_A j_A)$. Οι ρυθμοί μετασχηματισμού των υποστρωμάτων A και B (j_A^+ και j_B^+) και ο αντίστοιχος ρυθμός παραγωγής του προϊόντος C (j_C) δίνονται από τις αντίστοιχες σχέσεις: $j_A^+ = y'_{AC} k \theta_{AB}^{ss}$, $j_B^+ = y'_{BC} k \theta_{AB}^{ss}$ και $j_C = y_C^+ k \theta_{AB}^{ss}$. Αν θεωρήσουμε ότι η πιθανότητα δέσμευσης ενός υποστρώματος είναι η ίδια ανεξάρτητα από το αν το άλλο υπόστρωμα είναι ήδη δεσμευμένο ή όχι, δηλαδή $\rho_{AB} = \rho_A$ και $\rho_{BA} = \rho_B$, τότε το θ_{AB}^{ss} απλοποιείται στη μορφή:

$$\theta_{AB}^{ss} = k^{-1} (k^{-1} + (\rho_A j_A)^{-1} + (\rho_B j_B)^{-1} - (\rho_A j_A + \rho_B j_B)^{-1})^{-1}\tag{5.23}$$

και ο ρυθμός παραγωγής j_C στη μορφή

$$j_C = y_C^+ (k^{-1} + (\rho_A j_A)^{-1} + (\rho_B j_B)^{-1} - (\rho_A j_A + \rho_B j_B)^{-1})^{-1}\tag{5.24}$$

Τα συστήματα των εξισώσεων (5.18) και (5.21) είναι ειδικές περιπτώσεις των γενικών εξισώσεων για μεικτές κινητικές που προτάθηκαν από τον [26].

Παράρτημα B

Στο παράρτημα αυτό δίνονται οι πηγές και ο καθορισμός των παραμετρικών τιμών. Η οξείδωση των φαινολικών ουσιών περιγράφεται από τη χημική εξίσωση $P + y'_{O,P} O \rightarrow y_{IC,P} IC + y_{V,P} V$. Σύμφωνα με το νόμο διατήρησης της μάζας

$$\begin{aligned}n_{C,P} &= y_{IC,P} + y_{V,P} \\ n_{O,P} + 2y'_{O,P} &= 2y_{IC,P} + n_{O,V} y_{V,P},\end{aligned}\tag{5.25}$$

$n_{C,P}$ και $n_{O,P}$ είναι οι χημικοί δείκτες της φαινολικής ουσίας και $n_{O,V}$ της βιομάζας. Στις αριθμητικές προσομοιώσεις πήραμε $n_{C,P} = 6$, $n_{O,P} = 1$ (δηλαδή, φαινόλη, χλωροφαινόλη, κλπ) και $n_{O,V} = 0.5$ [92]. Οι στοιχειομετρικοί συντελεστές $y'_{O,P}$, $y_{IC,P}$ και $y_{V,P}$ καθορίστηκαν από δεδομένα των Semple and Cain [158]. Πήραμε $y_{IC,P} = 4.6$ και $y_{V,P} = 1.4$ χρησιμοποιώντας την πρώτη από τις εξισώσεις (5.25) και την πληροφορία ότι τα μικροφύκη είναι ικανά να μεταβολίζουν την $[U - {}^{14}C]$ φαινόλη, με ποσοστό περίπου 65% του σημασμένου ${}^{14}C$ να ανιχνεύεται σαν ${}^{14}CO_2$, 20% να ανιχνεύεται στη βιομάζα και το υπόλοιπο να παραμένει στο υδατικό μέσο. Αντικαθιστώντας αυτές τις τιμές στη δεύτερη εξισώση, προκύπτει ότι $y'_{O,P} = 4.45$, πολύ κοντά στη μέση τιμή που αναφέρουν οι Semple and Cain [158] για το οξυγόνο που καταναλώνεται από τα μικροφύκη, δηλαδή $4.5 \text{ mol } O_2$ ανά mol φαινόλης που οξειδώνεται. Η τιμή $y_{OL} = 0.167 \cdot 10^{-5} \text{ amol } O_2$ που απελευθερώνονται ανά PSU πάρθηκε από τους Kim et al. [86]. Η τιμή της παραμέτρου $y_{N,L}$ υπολογίζεται από τη σχέση $y_{N,L} = 2y_{O,L}$ Raven et al. [151]. Η τιμή του συντελεστή μετασχηματισμού ανά μονάδα βιομάζας $n_V = 5 \cdot 10^7 \text{ cells } (\mu\text{mol } V)^{-1}$ εκτιμήθηκε με τη χρήση δικών μας, μη δημοσιευμένων πειραματικών δεδομένων, που προέκυψαν από καλλιέργειες του μονοκύτταρου μικροφύκους *Scenedesmus obliquus*. Για την πιθανότητα δέσμευσης των φωτονίων ρ_L χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο που αναπτύχθηκε στο Κεφάλαιο 3. Ο χωρικός συντελεστής για τη μεταφορά μάζας του οξυγόνου K_O εξαρτάται από περιβαλλοντικούς παράγοντες και από τις συνθήκες ανάπτυξης. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορες τιμές [161, 25, 34]. Στις αριθμητικές προσομοιώσεις χρησιμοποιήσαμε τη μικρή τιμή, $K_O = 100d^{-1}$, για να αναδείξουμε τον περιοριστικό ρόλο του οξυγόνου στη διαδικασία της βιοαποικοδόμησης. Η τιμή της συγκέντρωσης ημικορεσμού του οξυγόνου, $X_{OS} = 0.2mM$ αφορά θερμοκρασία περίπου $25 {}^\circ C$. Οι αρχικές τιμές των μεταβλητών κατάστασης είναι οι τυπικές τιμές που χρησιμοποιούνται στα πειράματα [83, 158, 134]. Οι υπόλοιπες παραμετρικές τιμές πάρθηκαν αυθαίρετα. Πάντως, όταν ήταν δυνατόν, χρησιμοποιήσαμε ποιοτικά κριτήρια. Για παράδειγμα, το κόστος αναβάθμισης του αυτοτροφικού μηχανισμού y^A θεωρήθηκε χαμηλότερο από το κόστος της βιοαποικοδόμησης y^D [134].

Περίληψη

Αν δεχτούμε ότι η επιστημονική γνώση έχει συμβάλλει, μέσω των εφαρμογών της, στη βελτίωση της ποιότητας ζωής του ανθρώπου, τότε η ίδια η επιστημονική γνώση οφείλει να συμβάλλει στην αντιμετώπιση των προβλημάτων που δημιουργούνται από τη χρήση της τεχνολογίας. Η κλιματική αλλαγή, η μείωση του pH των οceans, η ρύπανση του περιβάλλοντος με τοξικές ουσίες είναι μερικά μόνο από τα προβλήματα που δημιουργεί η χρήση της τεχνολογίας. Η εκμετάλλευση των ικανοτήτων των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών συμβάλλει ήδη στην αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων και η προσπάθεια για ακόμη μεγαλύτερη συμβολή είναι συνεχής. Στην προσπάθεια αυτή έχει θέση και η πληρέστερη, και κατά το δυνατόν απλούστερη, μαθηματική μοντελοποίηση των ρυθμιστικών μηχανισμών ανάπτυξης των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών. Οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε σταθερή φωτεινή ένταση και σταθερή συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα προσαρμόζουν το φωτοσυνθετικό τους μηχανισμό σε αυτές τις περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης (εγκλιματισμός). Οι βασικές παραδοχές του μαθηματικού μοντέλου που αναπτύσσεται στο Κεφάλαιο 2 είναι οι εξής δύο. 1. Τα κύτταρα που αναπτύσσονται σε υψηλή φωτεινή ένταση διαθέτουν μεγαλύτερο αριθμό φωτοσυνθετικών μονάδων σε σχέση με τα κύτταρα που αναπτύσσονται σε χαμηλό φως, και 2. Τα κύτταρα που αναπτύσσονται σε περιβάλλον υψηλής συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα έχουν χαμηλότερο κόστος ανθρακοενσωμάτωσης σε σχέση με τα κύτταρα που αναπτύσσονται σε περιβάλλον χαμηλής συγκέντρωσης διοξειδίου του άνθρακα. Το μοντέλο είναι το πρώτο που καταφέρνει να προβλέψει την πειραματικά παρατηρούμενη τομή των καμπυλών φωτοσύνθεσης - φωτεινής έντασης (PI-καμπύλες) για κύτταρα που αναπτύσσονται σε συνθήκες υψηλής και χαμηλής φωτεινής έντασης. Όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες που αναπτύσσονται τα κύτταρα αλλάζουν οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί προσαρμόζουν το φωτοσυνθετικό τους μηχανισμό (προσαρμογή) στις νέες συνθήκες ανάπτυξης. Οι βασικές παραδοχές του μαθηματικού μοντέλου που αναπτύσσεται στο Κεφάλαιο 3 είναι οι εξής δύο. 1. Τα κύτταρα προσαρμόζουν τη φωτοσυλλεκτική τους κεραία ώστε να διοχετεύσουν τη δεσμευμένη φωτεινή ενέργεια στη γραμμή ροή ηλεκτρονίων (LEF), στην κυκλική ροή ηλεκτρονίων (CEF) και τον κύκλο νερού-νερού (WWC), και άλλους μηχανισμούς απόσβεσης της ενέργειας, και 2. Τα κύτταρα προσαρμόζουν τον αριθμό των λειτουργικών φωτοσυνθετικών μονάδων που εξυπηρετούν καθεμιά από τις παραπάνω

διεργασίες και ταυτόχρονα αποδομούν τις απενεργοποιημένες φωτοσυνθετικές μονάδες και δομούν νέες λειτουργικές φωτοσυνθετικές μονάδες. Η διαχείριση της δεσμευμένης ενέργειας στην κεραία γίνεται με κανόνες που λαμβάνουν υπόψη τη σχετική διαθεσιμότητα φωτός και διοξειδίου του άνθρακα. Όταν η φωτεινή ένταση αυξάνεται ή/και η συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα μειώνεται, μειώνεται το ποσοστό της ενέργειας που επενδύεται στη LEF, ενώ ταυτόχρονα αυξάνεται το ποσοστό που διοχετεύεται στη CEF και τους άλλους μηχανισμούς απόσβεσης. Η απενεργοποίηση των φωτοσυνθετικών μονάδων προκαλείται από την ενέργεια που διοχετεύεται στη LEF και δεν μπορεί να εκμεταλλευτεί φωτοσυνθετικά το κύτταρο. Το κύτταρο διαθέτει μηχανισμούς αποικοδόμησης των απενεργοποιημένων φωτοσυνθετικών μονάδων και σύνθεση νέων λειτουργικών φωτοσυνθετικών μονάδων. Όμως, όταν ο ρυθμός απενεργοποίησης είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό επιδιόρθωσης παρατηρείται μείωση του φωτοσυνθετικού ρυθμού, φαινόμενο που είναι γνωστό ως φωτοαναστολή. Το μαθηματικό μοντέλο είναι το πρώτο που ποσοτικοποιεί τη διαχείριση της δεσμευμένης ενέργειας και την διασύνδεσή της με τη φωτοαναστολή και προβλέπει, για πρώτη φορά, και σε συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα διαφορετικών και ανεξάρτητων βιβλιογραφικών πηγών ότι ο ρυθμός της απορριπτόμενης ενέργειας επηρεάζεται από τις αλλαγές στα επίπεδα διοξειδίου του άνθρακα. Κατά την αύξηση της φωτεινής έντασης ο ρυθμός απενεργοποίησης αυξάνεται όπως επίσης αυξάνεται και ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου, ενώ μετά από μια κρίσιμη τιμή της φωτεινής έντασης ο ρυθμός παραγωγής οξυγόνου μειώνεται αναδεικνύοντας τη φωτοαναστολή.

Το φωτοσυνθετικό κύτταρο αναπτύσσεται μέσα σε ένα πληθυσμό κυττάρων. Στα Κεφάλαια 4 και 5 παρουσιάζονται τα πληθυσμιακά μοντέλα που δομήσηκαν με βάση το ατομικό μοντέλο της προσαρμογής (Κεφάλαιο 3). Το πρώτο πληθυσμιακό μοντέλο αναπτύσσεται στη στήλη του νερού και λαμβάνει υπόψη τον ενδοειδικό ανταγωνισμό για φως και ανόργανο διαλυμένο άνθρακα, τον αυτοσκιασμό και τη φωτοπροσαρμογή των φωτοσυνθετικών μικροοργανισμών. Το μοντέλο προβλέπει σωστά τα πρότυπα κατανομής της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας και τα πρότυπα κατανομής της χλωροφύλλης στη στήλη του νερού και δίνει απάντηση στη διαφωνία για το αν μπορούμε να χρησιμοποιούμε τα πρότυπα της χλωροφύλλης για την πρόβλεψη των προτύπων της βιομάζας. Επίσης, προβλέπει ότι η αύξηση της συγκέντρωσης ανόργανου άνθρακα στο θαλασσινό νερό δεν έχει σημαντική επίδραση στην κατανομή της φυτοπλαγκτονικής βιομάζας στη στήλη του νερού. Το δεύτερο πληθυσμιακό μοντέλο αναπτύσσεται σε κλειστό φωτοβιοαντιδραστήρα αποσκοπώντας να αναδείξει τις εφαρμογές που θα μπορούσαν να έχουν τα πληθυσμιακά μοντέλα που δομούνται με τη βοήθεια αξιόπιστων ατομικών μηχανιστικών μαθηματικών μοντέλων. Στο μοντέλο αυτό ποσοτικοποιείται η αποικοδόμηση των φαινολικών ενώσεων από τους φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς, λαμβάνοντας υπόψη ότι η βιοαποικοδόμηση έχει αυξημένες απαιτήσεις για οξυγόνο και υψηλό βιοχημικό κόστος για να πραγματοποιηθεί. Το μοντέλο προβλέπει ότι πέραν της επιτυχούς βιοαποικοδόμησης

υπάρχει και ένα μικρό αλλά όχι ασήμαντο κέρδος σε βιομάζα. Επίσης, προβλέπει ότι στη διάρκεια της βιοαποικοδόμησης επικρατούν σχεδόν ανοξικές συνθήκες που όπως έχει παρατηρηθεί πειραματικά ευνοούν την παραγωγή φωτοσυνθετικού υδρογόνου. Η δόμηση ενός μαθηματικού μοντέλου που να προβλέπει αυτήν την παραγωγή θα μπορούσε να είναι μια άλλη εφαρμογή και αποτελεί ένα από τα μελλοντικά μας σχέδια.

Abstract

If we accept that scientific knowledge has contributed, through applications, to improve the quality of human life, the same scientific knowledge is required to help address the problems arising from the use of technology. Climate change, reduction of oceans pH, environmental pollution with toxic substances are just some of the problems posed by the use of technology. The holding capacity of photosynthetic organisms is already contributing to overcoming these problems and trying continuously to an even greater contribution. In this attempt, the mathematical modeling of the regulatory mechanisms of development of the photosynthetic organisms will be of use. Photosynthetic microorganisms that grow at a constant light intensity and constant concentration of carbon dioxide adjust their photosynthetic mechanism in these environmental growth conditions (Acclimation). The basic assumptions of the mathematical model developed in Chapter 2 are two: 1. Cells grown in high light intensity have a larger number of photosynthetic units compared with cells grown in low light, and 2. The cells that grow in an environment of high concentration of carbon dioxide have lower cost for carbon fixation compared with cells that grow in an environment of low concentration of carbon dioxide. The model is the first that manages to predict the experimentally observed intersection curves of photosynthesis - light intensity (PI-curves) for cells grown in conditions of high and low intensity. When environmental conditions change, the photosynthetic cells adapt their photosynthetic mechanism (adaptation) to the new growth conditions. The basic assumptions of the mathematical model developed in Chapter 3 are two: 1. The photosynthetic cells adjust their antenna size for the partition of the absorbed light energy in the linear electron flow (LEF), the cyclic electron flow (CEF) and water-water cycle (wwc), and other quenching mechanisms, and 2. The cells regulate the number of functional photosynthetic units serving each of these processes and also degrade the disabled photosynthetic units and construct new functional photosynthetic units. The allocation of the absorbed light energy is done by rules that take into account the relative availability of light and carbon dioxide. When the light intensity increases and/or the concentration of carbon dioxide reduced, decreasing the amount of energy allocated in LEF, while increasing the percentage goes to CEF and other quenching mechanisms. The inactivation of photosynthetic units caused by

the energy allocated to the LEF and that cannot be used by the photosynthetic cell. The cell has mechanisms of degradation of photosynthetic units disabled and synthesis of new functional photosynthetic units. However, when the rate of deactivation is greater than the rate of repair a reduction in photosynthetic rate occurs, a phenomenon known as photoinhibition. The mathematical model is the first to quantify the management of absorbed energy and interface with the photoinhibition and provides for the first time, and in agreement with experimental data from different and independent literature sources that the rate of wasted energy is affected by changes in levels of carbon dioxide. By increasing the light intensity the rate of deactivation as well as the rate of oxygen production increases. After a critical value of the light intensity the oxygen production rate decreases revealing photoinhibition. The photosynthetic cell grows in a population. Chapters 4 and 5 show the population models that structured based on the individual model of regulation modulation (Chapter 3). The first population model developed in the water column and captures intraspecies competition for light and dissolved inorganic carbon, the self shading and the photoadaptation of photosynthetic microorganisms. The model predicts correctly the distribution patterns of phytoplankton biomass and distribution patterns of chlorophyll in the water column and answers to the disagreement about whether we can use patterns of chlorophyll to predict patterns of biomass. It also provides that the increased concentration of inorganic carbon in sea water has no significant effect on the distribution of phytoplankton biomass in the water column. The second population model developed in a closed photobioreactor aiming to highlight the applications that have the population models that are constructed based on trustworthy individual mechanistic mathematical models. In this model we quantify the degradation of phenolic compounds from photosynthetic organisms, assuming that the biodegradation has increased demands for oxygen and high biochemical cost. The model predicts that in addition to the successful biodegradation there is a small but not insignificant gain in biomass. It also predicts that during biodegradation dominate almost anoxic conditions which as observed experimentally promote photosynthetic hydrogen production. The construction of a mathematical model that provides this production could be another application and this will be one of our future plans.

Bibliography

- [1] N. Adir, H. Zer, S. Shochat, and I. Ohad. Photoinhibition - a historical perspective. *Photosynth Res*, 76:343–370, 2003.
- [2] J. F. Allen. Oxygen reduction and optimum production of *atp* in photosynthesis. *Nature*, 256(25518):599–600, 1975.
- [3] J.F. Allen. Photosynthesis of ATP - Electrons, Proton Pumps, Rotors, and Poise. *Cell*, 110:273–276, 2002.
- [4] J.F. Allen. Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain. *Trends Plant Sci*, 8:15–19, 2003.
- [5] J.F. Allen and J. Forsberg. The balancing act: redox poise and signalling. *XIIth International Congress on Photosynthesis*, 2001.
- [6] J. M. Anderson, Y.-I. Park, and W. S. Chow. Photoinactivation and photoprotection of photosystem II in nature. *Physiol Plant*, 100:214–223, 1997.
- [7] J.M. Anderson, W. S. Chow, and D. J. Goodchild. Thylakoid membrane organization in sun/shade acclimation. *Aust J Plant Physiol*, 15:11–26, 1988.
- [8] J.F. Andrews. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnol Bioeng*, X:707–723, 1968.
- [9] D. Antoine and A. Morel. Oceanic primary production 1. Adaptation of a spectral light-photosynthesis model in view of application to satellite chlorophyll observations. *Global Biogeochem Cycles*, 10:43–55, 1996.
- [10] T. J. Avenson, J. A. Cruz, and D. M. Kramer. Modulation of energy-dependent quenching of excitons in antennae of higher plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101:5530–5535, 2004.
- [11] T. J. Avenson, A. Kanazawa, J. A. Cruz, K. Takizawa, W. E. Ettinger, and D. M. Kramer. Integrating the proton circuit into photosynthesis: progress and challenges. *Plant Cell Environ*, 28:97–109, 2005.
- [12] N. R. Baker, J. Harbinson, and D. M. Kramer. Determining the limitations and regulation of photosynthetic energy transduction in leaves. *Plant Cell Environ*, 30:1107–1125, 2007.
- [13] S.M. Bamforth and I. Singleton. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *J Chem Technol Biotechnol*, 80:723–736, 2005.
- [14] K. Banse. Determining the carbon-to-chlorophyll ratio of natural phytoplankton. *Mar Biol*, 41:199–212, 1977.
- [15] J. Barber and B. Andersson. Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *Trends Biochem Sci*, 17:61–66, 1992.
- [16] I. Baroli and A. Melis. Photoinhibition and repair in *Dunaliella salina* acclimated to different growth irradiances. *Planta*, 198:640–646, 1996.
- [17] I. Baroli and A. Melis. Photoinhibitory damage is modulated by the rate of photosynthesis and by the photosystem II light-harvesting chlorophyll antenna size. *Planta*, 205:288–296, 1998.
- [18] M.J. Behrenfeld, E. Boss, D.A. Siegel, and D.M. Shea. Carbon-based ocean productivity and phytoplankton physiology from space. *Global Biogeochem Cycles*, 19:1–14, 2005.
- [19] M.J. Behrenfeld and P.G. Falkowski. A consumer’s guide to phytoplankton primary productivity models. *Limnol Oceanogr*, 42:1479–1491, 1997.
- [20] M.J. Behrenfeld and P.G. Falkowski. Photosynthetic rates derived from satellite-based chlorophyll concentration. *Limnol Oceanogr*, 42:1–20, 1997.
- [21] N. I. Bishop and H. Senger. Preparation and photosynthetic properties of synchronous cultures of *Scenedesmus*. In A. San Pietro, editor, *Methods in Enzymology*, volume 23, part A, pages 53–66. Academic Press, New York, 1971.

- [22] C. Bonaventura and J. Myers. Fluorescence and oxygen evolution from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biochim Biophys Acta*, 189:366–383, 1969.
- [23] B. Boon and H. Laudelout. Kinetics of nitrite oxidation by *Nitrobacter winogradskyi*. *Biochem J*, 85:440–447, 1962.
- [24] S. Bordel, R. Muñoz, L.F. Díaz, and S. Villaverde. Predicting the accumulation of harmful metabolic byproducts during the treatment of voc emissions in suspended growth bioreactors. *Environ Sci Technol*, 41:5875–5881, 2007.
- [25] S. Bordel, R. Muñoz, L.F. Díaz, and S. Villaverde. Mechanistic model for evaluating the performance of suspended growth bioreactors for the off-gas treatment of vocs. *Biochem Eng J*, 38:395–405, 2008.
- [26] B.W. Brandt, I.M.M. van Leeuwen, and S.A.L.M. Kooijman. A general model for multiple substrate biodegradation. application to co-metabolism of structurally non-analogous compounds. *Water Res*, 37:4843–4854, 2003.
- [27] G.E. Briggs and J.B.S. Haldane. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochem J*, 19:338–339, 1925.
- [28] L. Bulte, P. Gans, F. Rebéillé, and F.-A. Wollman. ATP control on state transitions in vivo in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochim Biophys Acta*, 1020:72–80, 1990.
- [29] R. F. Camacho, F. G. Camacho, J. M. F. Sevilla, Y. Chisti, and E. M. Grima. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 81:459–473, 2003.
- [30] C.A. Carlson, H.W. Ducklow, and A.F. Michaels. Annual flux of dissolved organic carbon from the euphotic zone in the northwestern Sargasso sea. *Nature*, 371:405–408, 1994.
- [31] C.E. Cerniglia. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3:351–368, 1992.
- [32] S. W. Chow, H.-Y. Lee, J. He, L. Hendrickson, Y.-N. Hong, and S. Matsubara. Photoinactivation of photosystem II in leaves. *Photosynth Res*, 84:35–41, 2005.
- [33] R. J. Cogdell. The structural basis of non-photochemical quenching is revealed? *Trends Plant Sci*, 11:59–60, 2006.
- [34] E.M. Contreras, M.E. Albertario, N.C. Bertola, and N.E. Zaritzky. Modelling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques. *J Hazard Mater*, 158:366–374, 2008.
- [35] A. Cornish-Bowden and M. L. Cárdenas. Information transfer in metabolic pathways. effects of irreversible steps in computer models. *Eur J Biochem*, 268:6616–6624, 2001.
- [36] P. A. Crill. The photosynthesis-light curve: a simple analog model. *J theor Biol*, 64:503–516, 1977.
- [37] J.J. Cullen. The deep chlorophyll maximum: Comparing vertical profiles of chlorophyll a. *Can J Fish Aquat*, 39:791–803, 1982.
- [38] H. Dau. Short-term adaptation of plants to changing light intensities and its relation to photosystem ii photochemistry and fluorescence emission. *J Photochem Photobiol*, 26:3–27, 1994.
- [39] B. Demmig-Adams and W. W. Adams-III. Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist*, 172:11–21, 2006.
- [40] A.D. Dimou, T.M. Sakellarides, F.K. Vosniakos, N. Giannoulis, E. Leneti, and T. Albanis. Determination of phenolic compounds in the marine environment of thermaikos gulf, northern greece. *Intern J Environ Anal Chem*, 86:119–130, 2006.
- [41] W. K. Dodds, Biggs B. J. F., and Lowe R. L. Photosynthesis-irradiance patterns in benthic microalgae: Variations as a function of assemblage thickness and community structure. *J Phycol*, 35:42–53, 1999.
- [42] H. Drange and P. M. Haugan. Carbon dioxide sequestration in the ocean: the possibility of injection in shallow water. *Energy Convers Mgmt*, 33:697–704, 1992.
- [43] P. H. C. Eilers and J. C. H. Peeters. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. *Ecological Modelling*, 42:199–215, 1988.
- [44] P. H. C. Eilers and J. C. H. Peeters. Dynamic behaviour of a model for photosynthesis and photoinhibition. *Ecological Modelling*, 69:113–133, 1993.
- [45] B.E. Ellis. Degradation of phenolic compounds by fresh-water algae. *Plant Sci Lett*, 8:213–216, 1977.
- [46] L.B.E. Ellis, D. Roe, and L.P. Wackett. The university of minnesota biocatalysis/biodegradation database: the first decade. *Nucleic Acids Res*, 34:D517–D521, 2006.
- [47] R.W Eppley and E.H. Renger. Nitrogen assimilation of an oceanic diatom in nitrogen-limited continuous culture. *J Phycol*, 10:15–23, 1974.

- [48] T. Essam, M. A. Amin, O. E. Tayeb, B. Mattiasson, and B. Guieyssse. Solar-based detoxification of phenol and p-nitrophenol by sequential TiO₂ photocatalysis and photosynthetically aerated biological treatment. *Water Res.*, 41:1697–1704, 2007.
- [49] G. P. Falkowski and T. G. Owens. Light-shade adaptation. two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiol.*, 66:592–595, 1980.
- [50] G. P. Falkowski, T. G. Owens, A. C. Ley, and D. C. Mauzerall. Effects of growth irradiance levels on the ratio of reaction centers in two species of marine phytoplankton. *Plant Physiol.*, 68:969–973, 1981.
- [51] M. J. R. Fasham and T. Platt. Photosynthetic response of phytoplankton to light: a physiological model. *Proc R Soc Lond, B*219:355–370, 1983.
- [52] R.A. Feely, S.R. Alin, J. Newton, C.L. Sabine, M. Warner, A. Devol, C. Krembs, and C. Maloy. The combined effects of ocean acidification, mixing, and respiration on pH and carbonate saturation in an urbanized estuary. *Estuar coast shelf*, 88:442–449, 2010.
- [53] C. B. Field, M. J. Behrenfeld, J. T. Randerson, and P. Falkowski. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science*, 281:237–240, 1998.
- [54] E. L. Fridlyand and R. Scheibe. Controlled distribution of electrons between acceptors in chloroplasts: a theoretical consideration. *Biochim Biophys Acta*, 1413:31–42, 1999.
- [55] H. Gaffron. Der auffallende unterschied in der physiologie nahe verwandter algenstämme nebst bemerkungen über die lichtatmung. *Biol Zent bl*, 59:302–312, 1939.
- [56] H. Gaffron and J. Rubin. Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. *J Gen Physiol*, 26:219–240, 1942.
- [57] E. Garcia-Mendoza, H. C. P. Matthijs, H. Schubert, and L. R. Mur. Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in *Chlorella fusca* acclimated to constant and dynamic light conditions. *Photosynth Res*, 74:303–315, 2002.
- [58] F. Gervais, U. Siedel, B. Heilmann, G. Weeithoff, G. Heisig-Gunkel, and A. Nicklisch. Small-scale vertical distribution of phytoplankton, nutrients and sulphide below the oxycline of a mesotrophic lake. *J Plankton Res*, 25:273–278, 2003.
- [59] M.L. Ghirardi and P. Mohanty. Oxygenic hydrogen photoproduction - current status of the technology. *Curr Sci INDIA*, 98:499–507, 2010.
- [60] D.T. Gibson, J.M. Wood, P.J. Chapman, and S. Dagney. Bacterial degradation of aromatic compounds. *Biotechnol Bioeng*, IX:33–44, 1967.
- [61] P.R. Gogate and A. Pandit. A review of imperative technologies for wastewater treatment i: oxidation technologies at ambient conditions. *Adv Environ Res*, 8:501–551, 2004.
- [62] J. L. F. Gordillo, C. Jiménez, F. L. Figueroa, and X. Niell. Influence of elevated CO₂ and nitrogen supply on the carbon assimilation performance and cell composition of the unicellular alga *Dunaliella viridis*. *Physiologia Plantarum*, 119:513–518, 2003.
- [63] Govindjee. On the requirement of minimum number of four versus eight quanta of light for the evolution of one molecule of oxygen in photosynthesis: A historical note. *Photosynth Res*, 59:249–254, 1999.
- [64] S. Hajdu, H. Hoglander, and U. Larsson. Phytoplankton vertical distributions and composition in Baltic Sea cyanobacterial blooms. *Harmful Algae*, 6:189–205, 2007.
- [65] B.-P. Han. Photosynthesis-irradiance response at physiological level: a mechanistic model. *J theor Biol*, 213:121–127, 2001.
- [66] B.-P. Han. A mechanistic model of algal photoinhibition induced by photodamage to photosystem-II. *J theor Biol*, 214:519–527, 2002.
- [67] B.-P. Han, M. Vitranen, J. Koponen, and M. Straskraba. Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: a dynamic model. *J Plankton Res*, 22:865–885, 2000.
- [68] G.P. Harris and R.E.H. Smith. Observations of small-scale spatial patterns in phytoplankton populations. *Limnol Oceanogr*, 22:887–899, 1977.
- [69] M. A. Harrison, A. Melis, and L. F. Allen. Restoration of irradiance-stressed *Dunaliella salina* (green alga) to physiological growth conditions: changes in antenna size and composition of photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 1100:83–91, 1992.
- [70] M. Havaux, G. Guedeney, Q. He, and A. R. Grossman. Elimination of high-light-inducible polypeptides related to eukaryotic chlorophyll a/b-binding proteins results in aberrant photoacclimation in *Synechocystis pcc6803*. *Biochim Biophys Acta*, 1557:21–33, 2003.

- [71] J. He and W. S. Chow. The rate coefficient of repair of photosystem II after photoinactivation. *Physiol Plant*, 118:297–304, 2003.
- [72] R.R. Hood, A. Subramaniam, L.R. May, E.J. Carpenter, and D.G. Capone. Remote estimation of nitrogen fixation by *Trichodesmium*. *Deep-Sea Research II*, 49:123–147, 2002.
- [73] P. Horton, A. V. Ruban, and R. G. Walters. Regulation of light harvesting in green plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 47:655–684, 1996.
- [74] J. Huisman, P. van Oostveen, and F. J. Weissing. Critical depth and critical turbulence: Two different mechanisms for the development of phytoplankton blooms. *Limnol Oceanogr*, 44(7):1781–1787, 1999.
- [75] A.G. Ivanov, R.M. Morgana, G.R. Gray, M.Y. Velitchkova, and N.P.A. Huner. Temperature/light dependent development of selective resistance to photoinhibition of photosystem I. *FEBS Lett*, 430:288–292, 1998.
- [76] E. Jin, J.E.W. Polle, and A. Melis. Involvement of zeaxanthin and of the cbr protein in the repair of photosystem ii from photoinhibition in the green alga *Dunaliella salina*. *Biochim Biophys Acta*, 1506:244–259, 2001.
- [77] E. Jin, K. Yokthongwattana, J. E. W. Polle, and A. Melis. Role of the reversible xanthophyll cycle in the photosystem II damage and repair cycle in *Dunaliella salina*. *Plant Physiol*, 132:352–364, 2003.
- [78] P. Joliot and A. Joliot. Cyclic electron transfer in plant leaf. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99:10209–10214, 2002.
- [79] P. Joliot and A. Joliot. Cyclic electron flow in C3 plants. *Biochim Biophys Acta*, 1757:362–368, 2006.
- [80] T. M. Kana and P. M. Glibert. Effect of irradiances up to 2000 $\text{micro em}^{-2}\text{s}^{-1}$ on marine *Synechococcus* wh7803-ii.photosynthetic responses and mechanisms. *Deep sea Res*, 10:497–516, 1987.
- [81] A. Kanazawa and D. M. Kramer. *In vivo* modulation of nonphotochemical excitonquenching (NPQ) by regulation of the chloroplast ATP synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99:12789–12794, 2002.
- [82] A. Kaplan and L. Reinhold. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 50:539–570, 1999.
- [83] S. Kar, T. Swaminathan, and A. Baradarajan. Studies on biodegradation of a mixture of toxic and nontoxic pollutant using arthrobacter species. *Bioprocess Eng*, 15:195–199, 1996.
- [84] N. Keren, A. Berg, P. J. M. van Kan, H. Levanon, and I. Ohad. Mechanism of photosystem II photoinactivation and D1 protein degradation at low light: The role of back electron flow. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:1579–1584, 1997.
- [85] N Keren and I. Ohad. State transition and photoinhibition. In J.-D. Rochaix, M. Goldschmidt-Clermont, and S. Merchant, editors, *The Molecular Biology of Chloroplasts and Mitochondria in Chlamydomonas*, chapter 30, pages 569–596. Kluwer Academic Publishers, 1998.
- [86] J. H. Kim, R. E. Click, and A. Melis. Dynamics of photosystem stoichiometry adjustment by light quality in chloroplasts. *Plant Physiol*, 102:181–190, 1993.
- [87] C.A. Klausmeier and E. Litchman. Algal games: The vertical distribution of phytoplankton in poorly mixed water columns. *Limnol Oceanogr*, 46:1998–2007, 2001.
- [88] B. Kok. On the inhibition of photosynthesis by intense light. *Biochim Biophys Acta*, 21:234–244, 1956.
- [89] T. Kondo, M. Arakawa, T. Wakayama, and J. Miyake. Hydrogen production by combining two types of photosynthetic bacteria with different characteristics. *Int J Hydrogen Energy*, 27:1303–1308, 2002.
- [90] S. A. L. M. Kooijman. The synthesizing unit as a model for the stoichiometric fusion and branching of metabolic fluxes. *Biological Chemistry*, 73:179–188, 1998.
- [91] S. A. L. M. Kooijman. *Dynamic Energy and Mass Budgets in Biological Systems*. Cambridge University Press, 2000.
- [92] S. A. L. M. Kooijman, H. A. Dijkstra, and B. W. Kooi. Light-induced mass turnover in a mono-species community of mixotrophs. *J Theor Biol*, 214:233–254, 2002.
- [93] S.A.L.M. Kooijman. Quantitative aspects of metabolic organization: a discussion of concepts. *Phil Trans R Soc Lond, B* 356:331–349, 2001.
- [94] K. Kotzabasis and D. Döernemann. Differential changes in the photosynthetic pigments and polyamine content during photoadaptation and photoinhibition in the unicellular green alga *Scenedesmus obliquus*. *Z Naturforsch*, 53c:833–840, 1998.
- [95] K. Kotzabasis, B. Strasser, E. Navakoudis, and D. Döernemann. The regulatory role of polyamines in structure and functioning of the photosynthetic apparatus during photoadaptation. *J Photochem Photobiol*, 50:45–52, 1999.

- [96] D. M. Kramer, T. J. Avenson, and G. E. Edwards. Dynamic flexibility in the light reactions of photosynthesis governed by both electron and proton transfer reactions. *Trends Plant Sci*, 9:349–357, 2004.
- [97] J. Kromkamp and M. Limbeek. Effect of short-term variation in irradiance on light harvesting and photosynthesis of the marine diatom *Skeletonema costatum*: a laboratory study simulating vertical mixing. *J Gen Microbiol*, 139:2277–2284, 1993.
- [98] T.V. Laurinavichene, I. V. Tolstygina, R. R. Galiulina, M. L. Ghirardi, M. Seibert, and A. A. Tsyanov. Dilution methods to deprive *Chlamydomonas reinhardtii* cultures of sulfur for subsequent hydrogen photo-production. *Int J Hydrogen Energy*, 27:1245–1249, 2002.
- [99] K.-Y Lee, Y.-N. Hong, and W. S. Chow. Photoinactivation of photosystem II complexes and photoprotection by non-functional neighbours in *Capsicum annuum* L. leaves. *Planta*, 212:332–342, 2001.
- [100] Y. Li and K. Gao. Photosynthetic physiology and growth as a function of colony size in the cyanobacterium *Nostoc sphaeroides*. *Eur J Phycol*, 39:9–15, 2003.
- [101] K. Liki and I. A. Papadakis. Modeling the biodegradation of phenolic compounds by microalgae. *J Sea Res*, 62:135–146, 2009.
- [102] K. Logothetis, S. Dakanali, N. Ioannidis, and K. Kotzabasis. The impact of high co₂ concentrations on the structure and function of the photosynthetic apparatus and the role of polyamines. *J Plant Physiol*, 161:715–724, 2004.
- [103] C.R. Lovell, N.T. Eriksen, A.J. Lewitus, and Y.P. Chen. Resistance of the marine diatom *Thalassiosira* sp.to toxicity of phenolic compounds. *Mar Ecol Prog Ser*, 229:11–18, 2002.
- [104] S. O. M. Massunaga, C.E. N. Gatts, A. G. Gomes, and H. Vargas. A simple model for the dynamics of photosynthesis. *Analytical sciences*, 17 Special Issue:s29–s30, 2001.
- [105] T. Masuda, J. E. W. Polle, and A. Melis. Biosynthesis and distribution of chlorophyll among the photosystems during recovery of the green alga *Dunaliella salina* from irradiance stress. *Plant Physiology*, 128:603–614, 2002.
- [106] R. O. Megard, D. W. Tonkyn, and W. H. Senft. Kinetics of oxygenic photosynthesis in planktonic algae. *J Plankton Res*, 6:325–337, 1984.
- [107] M. Megharaj, D.R. Madhavi, C. Sreenivasulu, A. Umamaheswari, and K. Venkateswarlu. Biodegradation of methyl parathion by soil isolates of microalgae and cyanobacteria. *Bull Environ Contam Toxicol*, 53:292–297, 1994.
- [108] M. Megharaj, H.W. Pearson, and K. Venkateswarlu. Effects of phenolic compounds on growth and metabolic activities of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus bijugatus* isolated from soil. *Plant and Soil*, 140:25–34, 1992.
- [109] A. Melis. Excitation energy transfer: Functional and dynamic aspects of lhc (cab) proteins. In D. R. Ort and C. F. Yocom, editors, *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*, pages 523–538. Kluwer Academic Publishers, 1996.
- [110] A. Melis. Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage *in vivo*? *Trends Plant Sci*, 4:130–135, 1999.
- [111] A. Melis. Photosynthetic H₂ metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* (unicellular green algae). *Planta*, 226:1075–1086, 2007.
- [112] A. Melis and T. Happe. Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy. *Plant Physiol*, 127:740–748, 2001.
- [113] A. Melis, L. Zhang, M. Forestier, M. Chirardi, and M. Seibert. Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*, 122:127–135, 2000.
- [114] J.S. Melo, S. Kholi, A.W. Patwardhan, and S.F. D'Souza. Effect of oxygen transfer limitations in phenol biodegradation. *Process Biochem*, 40:625–628, 2005.
- [115] S. Miyachi, J. Bürger, K. Kotzabasis, J. Thielmann, and H. Senger. Photosynthetic characteristics of three strains of cyanobacteria grown under low- or high-co₂ conditions. *Z Naturforsch*, 51c:40–46, 1996.
- [116] S. Miyachi, I. Iwasaki, and Y. Shiraiwa. Historical perspective on microalgal and cyanobacterial acclimation to low- and extremely high-co₂ conditions. *Photosynth Res*, 77:139–153, 2003.
- [117] C. Miyake, S. Horiguchi, A. Makino, Y. Shinzaki, H. Yamamoto, and K. Tomizawa. Effects of Light Intensity on Cyclic Electron Flow around PSI and its Relationship to Non-photochemical Quenching of Chl Fluorescence in Tobacco Leaves. *Plant Cell Physiol*, 46:1819–1830, 2005.

- [118] E. Navakoudis, N. E. Ioannidis, D. Dörnemann, and K. Kotzabasis. Changes in the LHCII-mediated energy utilization and dissipation adjust the methanol-induced biomass increase. *Biochim Biophys Acta*, 1767:948–955, 2007.
- [119] R. Nelson. *Probability, stochastic processes, and queueing theory*. Springer-Verlag, 1995.
- [120] G. L. Ngo and M. R. Roussel. A new class of biochemical oscillator models based on competitive binding. *Eur J Biochem*, 245:182–190, 1997.
- [121] R. M. Nisbet, E. B. Muller, K. Lika, and S.A.L.M. Kooijman. From molecules to ecosystems through dynamic energy budget models. *J Anim Ecol*, 69:913–926, 2000.
- [122] Y. Nishiyama, S. Allakhverdiev, and N. Murata. Inhibition of the repair of Photosystem II by oxidative stress in cyanobacteria. *Photosynth Res*, 84:1–7, 2005.
- [123] Y. Nishiyama, S. I. Allakhverdiev, and N. Murata. A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 1757:742–749, 2006.
- [124] P. J. Nixon and C. W. Mullineaux. Regulation of Photosynthetic Electron Transport. In E-M. Aro and B. Andersson, editors, *Regulation of Photosynthesis*, pages 533–555. Kluwer Academic Publishers, 2001.
- [125] K. K. Niyogi. Photoprotection revisited: Genetic and molecular approaches. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 50:333–359, 1999.
- [126] K. K. Niyogi, X-P. Li, V. Rosenberg, and H-S. Jung. Is PsbS the site of non-photochemical quenching inphotosynthesis? *J Exp Bot*, 56:375–382, 2004.
- [127] I. Ohad, N. Adir, H. Koike, D. Kyle, and Y. Inoue. Mechanism of photoinhibition *in vivo*: A reversible light-induced conformational change of reaction center II is related to an irreversible modification of the D1 protein. *J Biol Chem*, 265:1972–1979, 1990.
- [128] R. L. Oliver, J. Whittington, Z. Lorenz, and I. T. Webster. The influence of vertical mixing on the photoinhibition of variable chlorophyll a fluorescence and its inclusion in a model of phytoplankton photosynthesis. *J Plankton Res*, 25(9):1107–1129, 2003.
- [129] D. R. Ort and C. F. Yocum. Electron transfer and energy transduction in photosynthesis: An overview. In D. R. Ort and C. F. Yocum, editors, *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*, pages 1–9. Kluwer Academic Publishers, 1996.
- [130] W.J. Oswald. My sixty years in applied algology. *J appl Phycol*, 15:99–106, 2003.
- [131] W.J. Oswald, H.B. Gotaas, H.F. Ludwig, and V. Lynch. Algal symbiosis in oxidation ponds. III. photosynthetic oxygenation. *Sew Ind Waste*, 25:692–705, 1953.
- [132] I. A. Papadakis, K. Kotzabasis, and K. Lika. A cell-based model for the photoacclimation and CO₂-acclimation of the photosynthetic apparatus. *Biochim Biophys Acta*, 1708:250–261, 2005.
- [133] I.A. Papadakis, K. Kotzabasis, and K. Lika. Modeling the dynamic modulation of light energy in photosynthetic algae. submitted, J Theor Biol, 2010.
- [134] A. Papazi and K. Kotzabasis. Bioenergetic strategy of microalgae for the biodegradation of phenolic compounds—Exogenously supplied energy andcarbon sources adjust the level of biodegradation. *J Biotechnol*, 129:706–716, 2007.
- [135] A. Papazi, P. Makridis, P. Divanach, and K. Kotzabasis. Bioenergetic changes in the microalgal photosynthetic apparatus by extremely high CO₂ concentrations induce an intense biomass production. *Physiol Plantarum*, 132:338–349, 2008.
- [136] Y.-I. Park, W. S. Chow, and M. Anderson. Antenna size dependency of photoinactivation of photosystem II in light-acclimated pea leaves. *Plant Physiol*, 115:151–157, 1997.
- [137] F. Partensky, N. Hoepffner, W. K. W. Li, O. Ulloa, and D. Vaulot. Photoacclimation *Prochlorococcus* sp. (prochlorophyta) strains isolated from the north atlantic and the mediterranean sea. *Plant Physiol*, 101:285–296, 1993.
- [138] C. E. Payri, S. Maritorena, C. Bizeau, and M. Rodiére. Photoacclimation in the tropical alga *Hydrocoleum onkodes* (phodophyta, corallinae) from french polynesian reef. *J Phycol*, 37:223–234, 2001.
- [139] R. A. Pelroy, R. Rippka, and R. Y. Stanier. Metabolism of Glucose by Unicellular Blue-Green Algae. *Arch Mikrobiol*, 87:303–322, 1972.
- [140] D. Petroutsos, P. Katapodis, P. Christakopoulos, and D. Kekos. Removal of p-chlorophenol by the marine microalga *Tetraselmis marina*. *J Appl Phycol*, 19:485–490, 2007.
- [141] G. Pettersson. Error associated with experimental flux control coefficient determinations in the calvin cycle. *Biochim Biophys Acta*, 1289:169–174, 1996.

- [142] G. Pettersson. Errors associated with experimental determinations of enzyme flux control coefficients. *J theor Biol*, 179:191–197, 1996.
- [143] G. Pettersson. A new approach for determination of the selectivity favoured kinetic design of enzyme reactions. *J theor Biol*, 183:179–183, 1996.
- [144] G. Pettersson. Control properties of calvin photosynthesis cycle at physiological carbon dioxide concentrations. *Biochim Biophys Acta*, 1322:173–182, 1997.
- [145] G. Pettersson. Effect of dynamic channelling on the transient-state kinetics of coupled enzyme reactions. *J theor Biol*, 198:135–141, 1999.
- [146] G. Pinto, A. Pollio, L. Previtera, and F. Temussi. Biodegradation of phenols by microalgae. *Biotechnol Lett*, 24:2047–2051, 2002.
- [147] G. M. Poolman, D.A. Fell, and C. A. Raines. Elementary modes analysis of photosynthate metabolism in the chloroplast stroma. *Eur J Biochem*, 270:430–439, 2003.
- [148] G. M. Poolman, D.A. Fell, and S. Thomas. Modelling photosynthesis and its control. *J Exper Bot*, 51:319–328, 2000.
- [149] G. M. Poolman, H. Ölcer, J. C. Lloyd, C. A. Raines, and D.A. Fell. Computer modelling and experimental evidence for two steady states in the photosynthetic calvin cycle. *Eur J Biochem*, 268:2810–2816, 2001.
- [150] B. B. Prézelin. Light reactions in photosynthesis. In T. Platt, editor, *Physiological Bases of Phytoplankton Ecology*, pages 1–43. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 210, 1981.
- [151] P. H. Raven, R. F. Evert, and S. E. Eichhorn. *Biology of Plants*. W.H. Freeman and Company Publishers. New York, 2005.
- [152] O. N. Ross, C. M. Moore, D. J. Suggett, H. L. MacIntyre, and R. J. Geider. A model of photosynthesis and photo-protection based on reaction center damage and repair. *Limnol Oceanogr*, 53(5):1835–1852, 2008.
- [153] F. C. Rubio, F. G. Camacho, J. M. F. Sevilla, Y. Chisti, and E. M. Grima. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnol Bioeng*, 81:459–473, 2003.
- [154] S. Saha, F. Bhunia, and A. Kaviraj. Toxicity of phenol to fish and aquatic ecosystems. *Bull Environ Contam Toxicol*, 63:195–202, 1999.
- [155] S. Saha and A. Kaviraj. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin to some freshwater organisms. *Bull Environ Contam Toxicol*, 80:49–52, 2008.
- [156] A. Satoh, N. Kurano, H. Senger, and S. Miyachi. Regulation of energy balance in photosystems in response to changes in CO_2 concentrations and light intensities during growth in extremely-high- CO_2 -tolerant green microalgae. *Plant Cell Physiol*, 43(4):440–451, 2002.
- [157] S. Seker, H. Beyenal, B. Salih, and A. Tanyolac. Multi-substrate growth kinetics of *Pseudomonas putida* for phenol removal. *Appl Microbiol Biotechnol*, 47:610–614, 1997.
- [158] K.T. Semple and R.B. Cain. Biodegradation of phenols by the alga *Ochromonas danica*. *Appl Environ Microbiol*, 62:1265–1273, 1996.
- [159] K.T. Semple and R.B. Cain. Degradation of phenol and its methylated homologues by *Ochromonas danica*. *FEMS Microbiol Lett*, 152:133–139, 1997.
- [160] K.T. Semple, R.B. Cain, and S. Schmidt. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae. *FEMS Microbiol Lett*, 170:291–300, 1999.
- [161] M. Shishido and M. Toda. Apparent zero-order kinetics of phenol biodegradation by substrate-inhibited microbes at low substrate concentrations. *Biotechnol Bioeng*, 50:709–717, 1996.
- [162] M. Shishido and M. Toda. Simulation of oxygen concentration profile in calcium alginate gel beads entrapping microbes during biological phenol degradation. *Chem Eng Sci*, 51:859–872, 1996.
- [163] B. Shuter. A model of physiological adaptation in unicellular algae. *J theor Biol*, 78:519–552, 1979.
- [164] D.A Siegel, S.C. Doney, and J. A. Yoder. The North Atlantic Spring Phytoplankton Bloom and Sverdrup's Critical Depth Hypothesis. *Science*, 296:730–733, 2002.
- [165] D.A. Siegel and A.F. Michaels. Quantification of non-algal light attenuation in the sargasso sea: Implications for biogeochemistry and remote sensing. *Deep-Sea Research II*, 43:321–345, 1996.
- [166] A. Subramaniam, C.W. Brown, R.R. Hood, E.J. Carpenter, and D.G. Capone. Detecting *Trichodesmium* blooms in SeaWiFS imagery. *Deep-Sea Res II*, 49:107–121, 2002.
- [167] A. Sukenik, J. Bennett, A. Mortain-Bertrand, and P. G. Falkowski. Adaptation of the photosynthetic apparatus to irradiance in *Dunaliella tetroicta*. *Plant Physiol*, 92:891–898, 1990.

- [168] K. Takizawa, J. A. Cruz, A. Kanazawa, and D. M. Kramer. The thylakoid proton motive force *in vivo*. quantitative, non-invasive probes, energetics, and regulatory consequences of light-induced pmf. *Biochim Biophys Acta*, 1767:1233–1244, 2007.
- [169] S. M. Theg, L. J. Filar, and R. A. Dilley. Photoinactivation of chloroplasts already inhibited on the oxidizing side of photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 849:104–111, 1986.
- [170] A. Theodoridou, D. Dörnemann, and K. Kotzabasis. Light-dependent induction of strongly increased microalgal growth by methanol. *Biochim Biophys Acta*, 1573:189–198, 2002.
- [171] V. Tikoo, A.H. Scragg, and S.W. Shales. Degradation of pentachlorophenol by microalgae. *J Chem Tech Biotechnol*, 68:425–431, 1997.
- [172] A.R. Trancoso, S. Saraiva, L. Fernandes, P. Pina, P. Leitao, and R. Neves. Modelling macroalgae using a 3D hydrodynamic-ecological model in a shallow, temperate estuary. *Ecol Model*, 187:232–246, 2005.
- [173] T.A. Troost, B.W. Kooi, and S.A. L. M. Kooijman. Ecological specialization of mixotrophic plankton in a mixed water column. *Am Nat*, 166:45–61, 2005.
- [174] S-C. Tsai, L-D. Tsai, and Y-K. Li. An isolated *Candida albicans* TL3 capable of degrading phenol at large concentration. *Biosci Biotechnol Biochem*, 69:2358–2367, 2005.
- [175] A. Tsoulpas, D. Dimou, D. Iconomou, and G. Aggelis. Phenolic removal in olive oil mill wastewater by strains of *Pleurotus* sp. in respect to their phenol oxidase (laccase) activity. *Bioresource Technol*, 84:251–257, 2002.
- [176] E. Tyystjärvi and E.-M Aro. The rate constant of photoinhibition, measured in lincomycin-treated leaves, is directly proportional to light intensity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:2213–2218, 1996.
- [177] E. Tyystjärvi, M. Hakala, and P. Sarvikas. Mathematical modelling of the light response curve of photoinhibition of Photosystem II. *Photosynth Res*, 84:21–27, 2005.
- [178] C. Vasilikiotis and A. Melis. Photosystem II reaction center damage and repair cycle: Chloroplast acclimation strategy to irradiance stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:7222–7226, 1994.
- [179] I. Vass, S. Styring, T. Hundal, A. Koivuniemi, E.-M. Aro, and B. Andersson. Reversible and irreversible intermediates during photoinhibition of photosystem II: Stable reduced QA species promote chlorophyll triplet formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89:1408–1412, 1992.
- [180] D. Warshawsky, T. Cody, M. Radike, R. Reilman, B. Schumann, K. LaDow, and J. Schneider. Biotransformation of benzo[a]pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic analogs by several green algae and other algal species under gold and white light. *Chem-Biol Interact*, 97:131–148, 1995.
- [181] T. Westberry, M. J. Behrenfeld, D. A. Siegel, and E. Boss. Carbon-based primary productivity modeling with vertically resolved photoacclimation. *Global Biogeochem Cycles*, 22:1–18, 2008.
- [182] M. Winder and D.A. Hunter. Temporal organization of phytoplankton communities linked to physical forcing. *Oecologia*, 156:179–192, 2008.
- [183] S. Zhang and H.V. Scheller. Photoinhibition of photosystem I at chilling temperature and subsequent recovery in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*, 45(11):1595–1602, 2004.
- [184] C. Zonneveld. Modeling effects of photoadaptation on the photosynthesis-irradiance curve. *J theor Biol*, 186:381–388, 1997.
- [185] C. Zonneveld. A cell-based model for the chlorophyll α to carbon ratio in phytoplankton. *Ecological Modelling*, 113:55–70, 1998.
- [186] C. Zonneveld. Photoinhibition as affected by photoacclimation in phytoplankton: a model approach. *J theor Biol*, 193:115–123, 1998.
- [187] C. Zonneveld, H. A. van Den Berg, and S. A. L. M. Kooijman. Modeling carbon cell quota in light-limited phytoplankton. *J theor Biol*, 188:215–226, 1997.

Δημοσιεύσεις

- 1.**I. A. Papadakis, K. Kotzabasis, and K. Lika. A cell-based model for the photoacclimation and CO₂-acclimation of the photosynthetic apparatus. *Biochim Biophys Acta*, 1708:250–261, 2005.
- 2.**K. Lika and I. A. Papadakis. Modeling the biodegradation of phenolic compounds by micro-algae. *J Sea Res*, 62:135–146, 2009.
- 3.**I.A. Papadakis, K. Kotzabasis, and K. Lika. Modeling the dynamic modulation of light energy in photosynthetic algae. submitted, *J Theor Biol*, 2010.