

флуоресценция хлорофилла *a* наблюдается при возбуждении самого хлорофилла *a*, а также хлорофилла *b* и каротиноидов. Энергетические уровни хлорофилла *a* самые низкие (о чем можно судить по положению спектра его флуоресценции), поэтому перенос энергии в хлоропласте всегда направлен к хлорофиллу *a*.

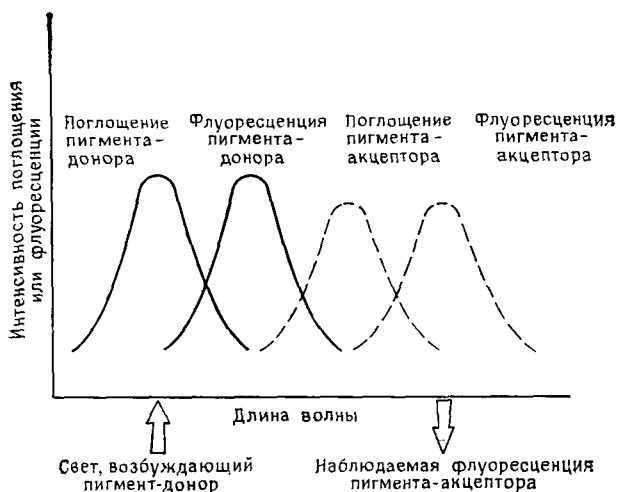


Рис. 4.3. Взаимное расположение полос поглощения и сенсibilизированной флуоресценции.

Изучение флуоресценции хлорофилла *a* и квантового выхода фотосинтеза у *Chlorella* показало, что у этой водоросли перенос энергии от хлорофилла *b* к хлорофиллу *a* происходит с эффективностью 100%, тогда как эффективность переноса энергии от каротиноидов к хлорофиллу *a* составляет лишь 40%. Для эффективного переноса энергии между молекулами различных пигментов необходимо, чтобы они были плотно упакованы в ламеллах хлоропластов.

### 4.3. Эффект Эмерсона и две световые реакции

Если процесс фотосинтеза возбуждается монохроматическим светом и при этом его эффективность измеряют по выделению  $O_2$  или по фиксации  $CO_2$ , то график зависи-

мости эффективности фотосинтеза от длины волны света называют *спектром действия* фотосинтеза. Если в фотохимической реакции участвует лишь один пигмент, то спектр действия реакции имеет ту же форму, что и спектр поглощения этого пигмента. Если за 1 с фотосинтезирующая система поглощает  $I$  квантов монохроматического света и при этом выделяет  $P$  молекул кислорода, то отношение  $\Phi = P/I$  называют квантовым выходом, или *квантовой эффективностью* фотосинтеза. Величина, обратная квантовому выходу,  $\frac{I}{\Phi}$ , показывает, сколько квантов света нужно для того, чтобы выделилась одна молекула  $O_2$ ; ее называют *квантовым расходом* фотосинтеза. Хотя значения квантового расхода, полученные разными авторами, колеблются в интервале от 4 до 12, обычно считают, что величина расхода не ниже 8.

В 1940-х годах Эмерсон и его сотрудники в Университете штата Иллинойс изучали спектры действия фотосинтеза разных водорослей, измеряя максимальный квантовый выход фотосинтеза как функцию длины волны монохроматического света, которым освещали водоросли. Они обнаружили, что у водоросли *Chlorella* наиболее эффективным для фотосинтеза был красный свет в диапазоне 650—680 нм и синий свет в диапазоне 400—460 нм, т. е. тот свет, который наиболее интенсивно поглощается хлорофиллом. Фотосинтетическая эффективность кванта, поглощенного при 680 нм, была примерно на 36% выше, чем эффективность кванта при 490 нм.

Квантовый выход фотосинтеза резко уменьшался с увеличением длины волны света в области длин волн больше 685 нм, несмотря на то, что хлорофилл еще достаточно хорошо поглощает в этой области спектр. Это явление, названное *красным падением* выхода фотосинтеза, удалось объяснить не сразу. В последующих опытах Эмерсон и его сотрудники показали, что эффективность фотосинтеза в дальней красной области (длины волн больше 685 нм) можно существенно увеличить, если дополнительно освещать водоросли красным светом (с длиной волны около 650 нм) (рис. 4.4). Оказалось, что количество кислорода, выделяющегося при одновременном освещении водорослей дальним красным светом

и красным светом, превышает сумму тех количеств кислорода, которые выделяются при освещении тех же водорослей каждым пучком света в отдельности. Это возрастание эффективности фотосинтеза при дальнем красном свете после включения дополнительного пучка света с меньшими длинами волн названо *эффектом усиления*

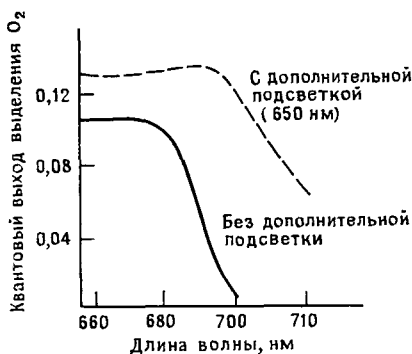


Рис. 4.4. Эффективность (квантовый выход) фотосинтеза зеленой водоросли *Chlorella* при освещении светом разных длин волн. При включении дополнительного источника света возрастает квантовый выход в области длин волн больше 680 нм (эффект усиления Эмерсона) (Emerson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. US, 43, 133, 1957.)

*Эмерсона*. Результаты измерений величины этого эффекта у трех видов водорослей, содержащих различные вспомогательные пигменты, показаны на рис. 4.5. На практике измеряют количество выделенного кислорода. Следует обратить внимание на то, что количество кислорода, выделившегося при одновременном освещении водорослей двумя пучками света с разными длинами волн, больше суммарного количества кислорода, выделяющегося при освещении объекта теми же световыми пучками, включаемыми по отдельности. Именно это служит показателем эффекта усиления фотосинтеза. Отсюда следует, что в фотосинтезе у растений участвуют две реакции, одна из них сенсibiliзируется хлорофиллом *a*, другая — вспомогательными пигментами. Сейчас эти реакции принято называть реакциями фотосистемы I (ФС I) и фотосистемы II (ФС II) соответственно.

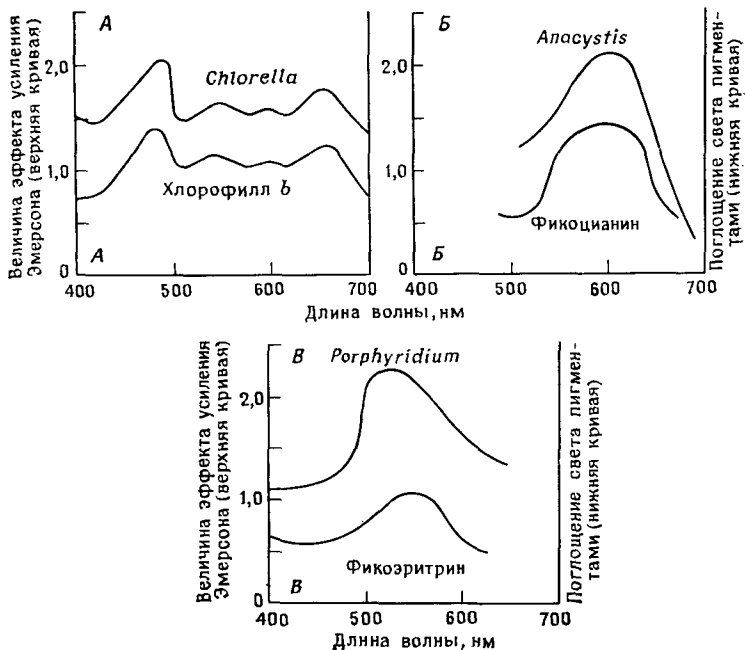


Рис. 4.5. Спектры действия эффекта Эмерсона у разных водорослей (верхняя кривая на каждом из графиков) подобны спектрам поглощения вспомогательных пигментов тех же водорослей (нижняя кривая на каждом графике). *A. Chlorella* — зеленая водоросль, содержащая хлорофилл *b*. *Б. Anacystis* — сине-зеленая водоросль, содержащая фикоцианин. *В. Porphyridium* — красная водоросль, содержащая фикоэритрин. (Emerson, Rabinowitch, Plant Physiol, 35, 477, 1960.)

В 1960 г. Майерс (Myers) и Френч (French) провели важный опыт, результаты которого показали, что оптимальная эффективность фотосинтеза может быть достигнута не только тогда, когда фотосистемы I и II работают одновременно, но и когда они работают по очереди, если темновой промежуток между периодами освещения длится несколько секунд. Эти данные указывают, что продукты обеих фотохимических реакций могут накапливаться и некоторое время сохраняться, а потом реагировать с компонентами цепи переноса электрона.

В пользу гипотезы о двух световых реакциях свидетельствуют результаты следующих опытов и расчетов. Разность окислительно-восстановительных потенциалов  $\Delta E$  (рис. 4.6) между субстратами и продуктами суммарной реакции фотосинтеза составляет 1,25 В (для пары  $\text{CO}_2$ — глюкоза  $\Delta E = -0,43$  В; для пары  $\text{H}_2\text{O}$ — $\text{O}_2$   $\Delta E = +0,82$  В). Но поскольку для высвобождения одной молекулы  $\text{O}_2$  и восстановления одной молекулы  $\text{CO}_2$  нужны 4 электрона, суммарная необходимая энергия равна в пересчете на 1 моль

$$4 \cdot 1,25 \text{ эВ} \cdot 9,64 \cdot 10^4 \frac{\text{Дж}}{\text{эВ}} = 48,2 \cdot 10^4 \text{ Дж} \quad (4.2)$$

(см. разд. 1.6, 2.5 и 6.4).

Очевидно, что такой энергетический барьер нельзя преодолеть за счет поглощения двух квантов фотосинтетически активного красного света (энергия 1 моля таких квантов равна  $17,1 \cdot 10^4$  Дж). Если учесть экспериментальные данные, согласно которым квантовый расход фотосинтеза в расчете на 1 молекулу  $\text{O}_2$  составляет 8 (см. разд. 4.3), то получается, что для выделения  $\text{O}_2$  нужны две световые реакции (поскольку один квант света обеспечивает перенос одного электрона). Расход

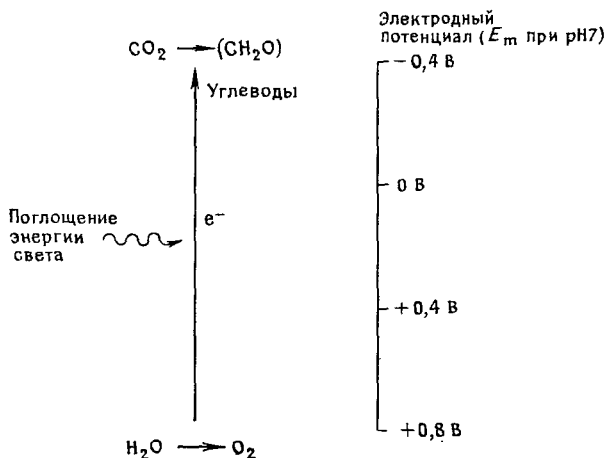


Рис. 4.6. Окислительно-восстановительные потенциалы суммарной реакции фотосинтеза.

8 квантов свидетельствует о том, что каждый из 4 электронов переносится дважды (в два приема). В 1960 г. Хилл и Бендалл (Bendall) в Кембридже выдвинули предположение о том, что две световые реакции должны работать последовательно, а не параллельно и что роль

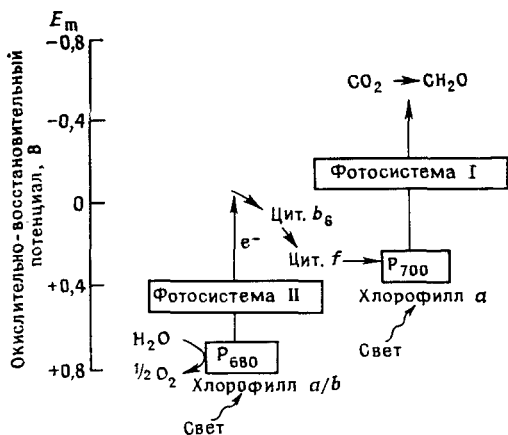


Рис. 4.7. Схема работы двух световых реакций, или Z-схема фотосинтеза. [Концепция Хилла и Бендалла (Hill, Bendall), Nature, 186, 136, 1960.]

переносчиков электронов в темновой реакции, соединяющей две фотосистемы, играют цитохромы  $b_6$  и  $f$ . Соответствующая схема показана на рис. 4.7; современные представления о переносе электрона при фотосинтезе описаны в гл. 5. Наиболее убедительные данные в пользу существования двух отдельных фотосистем были получены в многочисленных работах с использованием методов дифференциальной спектрофотометрии, примененных впервые Дюйзенсом (Duysens) и Коком (Kok) и впоследствии развитых Виттом (Witt). В этих работах измеряли изменения поглощения различных компонентов клетки при освещении монохроматическим светом разных длин волн. Схема дифференциального спектрофотометра показана на рис. 4.8. Изучив качественно и количественно изменения поглощения различных компонентов фотосинтетических реакций, например цитохро-

мов, можно делать выводы об их роли в цепи переноса электронов. К примеру, Дюйзенс освещал суспензию клеток красной водоросли *Porphyridium* в присутствии дихлорфенилдиметилмочевины (ДХММ, DCMU) — синтетического гербицида, подавляющего выделение кислорода

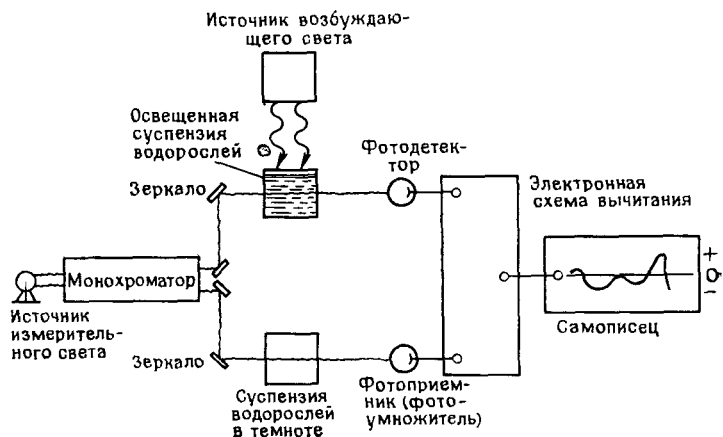


Рис. 4.8. Схема дифференциального спектрофотометра для измерения индуцированных светом изменений поглощения пигментов и других компонентов клеток.

да, и обнаружил накопление цитохрома  $f$  в окисленном состоянии. В контрольном опыте с клетками водорослей, не обработанными ингибиторами, спектр поглощения цитохрома  $f$  не изменялся, т. е. накопления окисленного цитохрома не происходило. Дюйзенс сделал вывод о том, что цитохром  $f$  является промежуточным переносчиком электрона в реакциях, сопровождающих выделение кислорода (см. гл. 5).

#### 4.4. Реакционные центры и первичные акцепторы электрона

Освещая суспензии водорослей короткими вспышками света, Кок сумел идентифицировать и охарактеризовать особый тип хлорофилла  $a$ , который он назвал пигментом  $P_{700}$ .  $P_{700}$  входит в состав хлоропластов в очень малых количествах. Его максимум поглощения лежит около