

## ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

## § 7.1. ФОТОСИНТЕЗ

В главах 3—5 рассмотрены биоэнергетические явления — трансформация химической энергии, запасенной в АТФ, в осмотическую и механическую работу. В гл. 6 описан обратный процесс — образование АТФ в результате работы дыхательной цепи, локализованной в митохондриях. Все эти процессы относятся к «темновой биологии», они протекают без участия света.

Вместе с тем существуют биоэнергетические явления, непосредственно связанные с действием солнечного света на организмы. В конечном счете именно излучение Солнца является источником жизни на Земле. В этой главе рассматриваются лишь два важнейших фотобиологических процесса — фотосинтез (в основном, в зеленых растениях) и зрительная рецепция.

Возникновение и существование живых систем, обладающих сложной структурой, упорядоченной в пространстве и времени, возможно лишь потому, что это открытые системы, находящиеся в состояниях, далеких от термодинамического равновесия. Возникновение жизни требовало источника свободной энергии. Такой источник — Солнце. Солнечная система далека от термодинамического равновесия, световая энергия, излучаемая Солнцем, используется для биохимических процессов, лежащих в основе жизни фотоавтотрофных растительных организмов. Фотосинтез в растениях есть использование световой энергии для образования сложных органических соединений, прежде всего углеводов, и синтеза АТФ. Глобальным результатом фотосинтеза является образование свободного молекулярного кислорода, создание окислительной атмосферы Земли, необходимой для дыхания как автотрофов, так и гетеротрофов (см., впрочем, стр. 480).

Суммарное уравнение фотосинтеза имеет вид



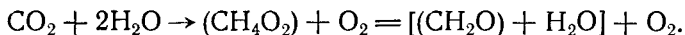
Здесь  $h\nu$  — квант света,  $(\text{CH}_2\text{O})$  — фрагмент молекулы углевода. При фотореакции выделяется энергия 112 ккал/моль. Изменение свободной энергии составляет 120 ккал/моль, следовательно, изменение энтропии в этом процессе равно — 27 кал/моль·К (при  $T = 300 \text{ К}$ ). На образование одной молекулы  $\text{O}_2$  расходуется

8 квантов света (см. далее стр. 336) с суммарной энергией около 350 ккал/моль. Коэффициент использования солнечной энергии тем самым равен  $120/350 = 0,34$ . Выделяемая энергия около 110 ккал/моль следует из баланса:

Энергия двух связей C=O в CO <sub>2</sub>	190×2 = 380
Энергия двух связей O—H в H <sub>2</sub> O	110×2 = 220
Итого	600
Энергия связи O=O в O <sub>2</sub>	116
Энергия двух связей C—H в формальдегиде CH <sub>2</sub> O	92×2 = 184
Энергия связи C=O в CH <sub>2</sub> O	190
Итого	490
600 — 490 = 110 ккал/моль.	

Суммарная реакция фотосинтеза обратна реакции, реализуемой в дыхании, — образованию CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O из органических соединений.

Разность энергий 112 ккал/моль следует из окислительно-восстановительного потенциала пары  $1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ , равного +0,81 эВ, и пары CO<sub>2</sub>/(CH<sub>2</sub>O) + H<sub>2</sub>O, равного —0,40 эВ. Их разность составляет 1,21 эВ. В фотосинтезе для восстановления CO<sub>2</sub> до углевода нужно перенести 4 атома водорода с H<sub>2</sub>O на CO<sub>2</sub>:



Вещество (CH<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) нестабильно, оно распадается на (CH<sub>2</sub>O) и H<sub>2</sub>O, причем выделение воды не меняет уровня восстановления. Соответственно баланс энергии сводится к  $1,21 \times 4 = 4,84$  эВ = 112 ккал/моль.

Таким образом, фотосинтез в зеленых растениях означает окислительно-восстановительную реакцию между окислителем CO<sub>2</sub> и восстановителем H<sub>2</sub>O, в которой четыре электрона (или четыре атома H) переносятся «вверх», преодолевая разность потенциалов около 1,2 В. Схематически этот процесс представлен на рис. 7.1 [1]. Он разделен на три стадии — две «горизонтальные» последовательности ферментативных реакций и «подъем» электронов с участием света. При бактериальном фотосинтезе вместо воды может фигурировать H<sub>2</sub>S; в этом случае разность потенциалов H<sub>2</sub>S/S меньше, она составляет —0,2 В.

Фотохимическая стадия, сводящаяся к запасанию световой энергии, трансформируемой в химическую, начинается с поглощения света пигментами растений, среди которых важнейшую роль играет хлорофилл. Тимирязев показал, что спектр действия солнечного света при фотосинтезе находится в грубом соответствии со спектром поглощения хлорофилла. Это положение имеет фундаментальное значение [2]. Скорость фотосинтеза  $P$ , измеряемая количеством выделенного в единицу времени кислорода

(или поглощенного  $\text{CO}_2$ ), зависит от интенсивности света  $I$ ,  $P = f(I)$ . Эта зависимость характеризуется насыщением (рис. 7.2). Тангенс угла начального наклона кривой выражает максимальный квантовый выход процесса, наблюдаемый при слабой освещенности. При понижении температуры кривая снижается.

Грубая теория, объясняющая насыщение, состоит в следующем: скорость фотохимического образования некоего субстрата пропорциональна числу поглощенных квантов. Субстрат неустойчив, так как после прекращения освещения продукция  $\text{O}_2$  прекращается, независимо от интенсивности света. Образовав-

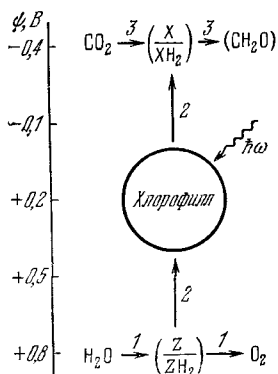


Рис. 7.1. Схема фотосинтеза. 1 — ферментативное превращение  $\text{H}_2\text{O}$  в  $\text{O}_2$ , 2 — перенос водорода от промежуточного вещества  $\text{Z}/\text{ZH}_2$  к  $\text{X}/\text{XH}_2$  в последовательности ферментативных стадий с помощью активированного светом хлорофилла, 3 — ферментативное превращение  $\text{CO}_2$  в  $(\text{CH}_2\text{O})$ .

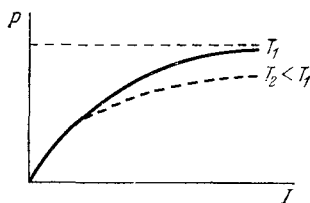


Рис. 7.2. Зависимость скорости выделения  $\text{O}_2$  от интенсивности света при двух температурах.

шийся при освещении субстрат трансформируется далее в ферментативных процессах, и если его количество слишком велико, то трансформация не успевает осуществиться до распада субстрата. Считая, что стационарная кинетика ферментативной реакции следует уравнению Михаэлиса — Ментен и концентрация субстрата  $S$  пропорциональна  $I$ , имеем

$$v = \frac{kEI}{K + I}, \quad (7.1)$$

где  $E$  — концентрация фермента,  $k, K$  — константы. При  $I \ll K$   $v \sim I$ , при  $I \gg K$   $v = v_{\max} = kE$ , т. е. имеется насыщение. Константа  $k$  равна  $k_e/n$ , где  $k_e$  — константа скорости ферментативной реакции, а  $n$  — число молекул субстрата, необходимых для продукции одной молекулы  $\text{O}_2$ . Из опыта следует, что наиболее вероятное значение  $n$  равно 8.

Таким образом, фотосинтез состоит из практически мгновенной первичной фотохимической реакции и ферментативной темновой

реакции (точнее — совокупности таких реакций). Эти два процесса можно разделить в опытах с импульсным освещением (см. далее). Такие опыты были впервые проведены Эмерсоном и Арнольдом [3], изучавшими фотосинтез в клетках зеленой водоросли хлореллы. Было установлено, что при вспышках длительностью  $10^{-5}$  с выход кислорода  $P_f$ , приходящийся на одну вспышку, вначале пропорционален интенсивности вспышки (числу квантов), а затем стремится к насыщению. Кривая зависимости  $P_f$  от энергии вспышки подобна кривым, изображенным на рис. 7.2.

Из данных химического анализа следует, что на один ферментный комплекс или на одну молекулу обобщенного фермента приходится около 300 молекул хлорофилла. Такой комплекс именуется фотосинтетической единицей (см. [4]). В фотосинтезирующих бактериях число молекул хлорофилла в фотосинтетической единице снижено до 50. Большое число молекул хлорофилла, объединенных в комплексе с одной молекулой обобщенного фермента, легко объясняется соотношением размеров этих молекул. Молекулярный вес фермента порядка  $10^5$ — $10^6$ , хлорофилла —  $10^3$ .

Константа скорости  $k_e$  находится путем измерения зависимости выхода  $O_2$  от продолжительности интервалов времени между вспышками  $t_d$ . По мере возрастания  $t_d$  выход  $O_2$  на вспышку увеличивается, пока  $t_d$  не достигнет 0,1 с. При этом значении происходит насыщение. Следовательно, лимитирующий скорость процесса фермент может переработать практически все количество субстрата, полученного при вспышке, за время порядка 0,1 с. Среднее время, необходимое для превращения одной молекулы субстрата, примерно в пять раз меньше; оно составляет около 0,02 с при комнатной температуре. Иными словами,  $k_e = 1/0,02 = 50 \text{ с}^{-1}$ .

Вместе с тем опыты с импульсным освещением дают количество фермента в фотосинтетической единице, равное

$$E = \text{Chl}/300,$$

где Chl — количество хлорофилла. Отсюда следует, что если один и тот же фермент лимитирует как стационарную скорость фотосинтеза при постоянном освещении, так и выход на вспышку, то  $v_{\max} = k_e E/n = 50 \text{ Chl}/n \cdot 300 \approx 0,02 \text{ Chl}$  в  $\text{с}^{-1}$ . Иными словами, максимальная скорость фотосинтеза при постоянном освещении равна одной молекуле  $O_2$  на молекулу хлорофилла за 50 с. Эта оценка хорошо согласуется с опытом.

Изложенная элементарная теория имеет ясное содержание, ее простота является крупным достоинством. В действительности, однако, фотосинтез включает целую совокупность фермен-

тативных реакций, и максимальная скорость может определяться не одной, а несколькими реакциями. При вспышках длительностью  $10^{-3}$  с максимальный выход процесса становится выше и оказывается зависящим от температуры (см. [1]).

Фотосинтетические единицы локализованы в *хлоропластах* — в специализированных органоидах растительных клеток. Строение и функциональность хлоропластов рассматриваются в § 7.5. Здесь мы остановимся на некоторых свойствах хлоропластов, имеющих общее значение для понимания фотосинтеза.

В водной суспензии хлоропластов с солями трехвалентного железа выделение кислорода пролонгируется. Происходит реакция Хилла [5], сводящаяся к фотосинтезу, к выделению  $O_2$  *in vitro* при участии добавленного окислителя. Таким окислителем служат ферри-соли, хиноны, красители. При изготовлении суспензии хлоропластов уничтожается или повреждается система  $\bar{Z}$  на рис. 7.1. Добавленный окислитель, т. е. акцептор водорода, замещает систему  $CO_2/(CH_2O)$ . Установлено, что реакция Хилла действительно является фотохимическим окислением воды. Продукция  $O_2$  в этом случае почти такая же, как и при фотосинтезе *in vivo*.

Реакция Хилла показывает, что фотосинтез есть окислительно-восстановительная реакция между  $H_2O$  и  $CO_2$ , в ходе которой четыре атома H переносятся от  $H_2O$  к  $CO_2$  и оба реагента одинаково существенны для процесса в целом. Однако первичная фотохимическая реакция более непосредственно связана с дегидрогенизацией воды, чем с гидрогенизацией  $CO_2$ . Источником  $O_2$  является  $H_2O$ , а не  $CO_2$ , что доказано опытами с водой, обогащенной  $O^{18}$  [6, 7].

Химия фотосинтеза рассматривается в § 7.4. Фотохимическая стадия завершается восстановлением НАДФ до НАДФ-Н, причем идет фосфорилирование, т. е. образование АТФ.

Одновременно с фотосинтезом происходит дыхание, т. е. поглощение  $O_2$ . На свету измеряется разность этих двух процессов. Доказано, что скорость дыхания одинакова в темноте и на свету. Тем самым два процесса могут быть разделены. Дыхательная цепь локализована в митохондриях, хлоропласты «не дышат». У ряда растений наблюдается *фотореспирация*, специфический процесс поглощения кислорода на свету, реализующийся под действием света определенного спектрального состава.

В этом и последующих параграфах приводится лишь краткое рассмотрение фотосинтеза, поневоле огрубленное. Фотосинтезу посвящена громадная литература, исследования в этой области интенсивно развиваются, и наши знания обогащаются непрерывно. Фотосинтезирующая система чрезвычайно сложна.

Сошлемся, наконец, на некоторые монографии, посвященные фотосинтезу [1, 8—11, 74].