

равная 0,4 эВ, которая может быть использована для синтеза АТФ. На рис. 7.12 показана энергетическая диаграмма событий в ФС I и ФС II [44], а на рис. 7.13 — общая схема фотосинтеза (ср. рис. 7.10 и 7.1). Наконец, на рис. 7.14 приведена весьма детализированная схема переноса электронов от  $H_2O$  к  $НАДФ^+$  в хлоропластах [44]. На схеме указаны временные и спектральные характеристики соответствующих процессов. Время окисления ПХ 20 мс является лимитирующим. Одновременно функционируют две цепи переноса электронов. Это доказывается следующими соображениями: образование пластогидроксинона за одну вспышку, в которой переносится только один

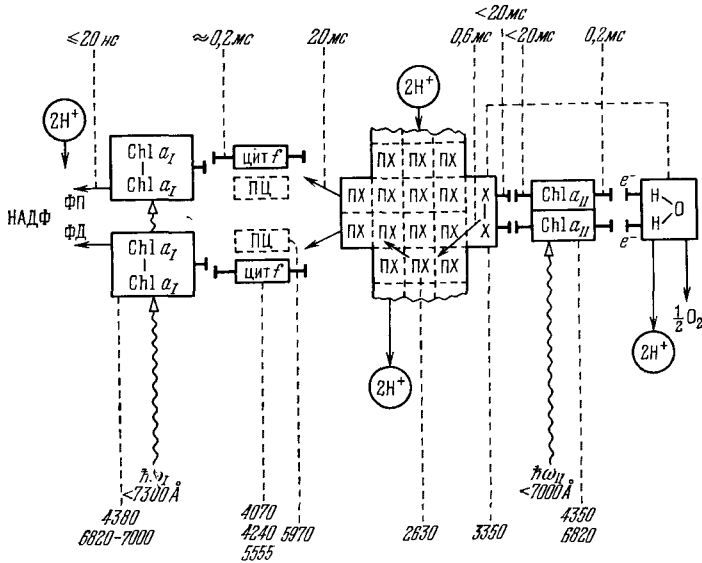


Рис. 7.14. Схема переноса электронов от  $H_2O$  к  $НАДФ^+$  в хлоропластах [44].

электрон, можно понять, лишь если две цепи действуют параллельно; первый порядок реакции исчезновения  $X^-$  3350 (донор электрона для ПХ) можно объяснить лишь наличием двух цепей; кооперация двух  $Chl a_{II}$  доказывается блокированием двух центров  $Chl a_{II}$  одной молекулой ДХММ.

### § 7.4. ИССЛЕДОВАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Изучение спектров флуоресценции фотосинтезирующей системы дает ценную информацию о ФС I и ФС II, несмотря на трудности интерпретации получаемых данных. Флуоресцирующая фотосинтезирующая система состоит из различных форм

пигментов, между молекулами которых возможна миграция энергии (см. далее, стр.370), что очень усложняет картину.

Квантовый выход флуоресценции *Chl a* составляет 30% *in vitro* и лишь 3—6% *in vivo*. В последнем случае флуоресцируют несколько форм хлорофилла *a*, различающиеся спектрами испускания и квантовыми выходами. Эти формы характеризуются различной зависимостью флуоресценции от интенсивности освещения и различным образом изменяются во время индукционного периода. Квантовый выход флуоресценции фикобилиинов не зависит от интенсивности освещения. Энергия, запасаемая

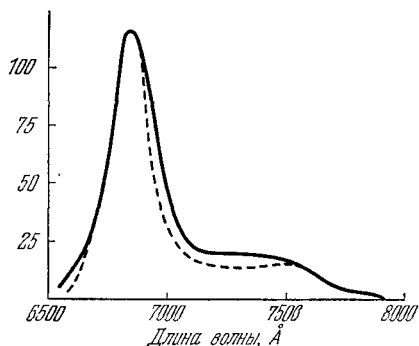


Рис. 7.15. Спектр флуоресценции хлореллы при возбуждении светом с  $\lambda$  4200 Å (сплошная кривая) и 4800 Å (пунктир).

По оси ординат — квантовый выход флуоресценции в произвольных единицах.

в *Chl a*, может расходоваться в фотосинтезе или излучаться. Малый выход флуоресценции определяется именно тем, что энергия идет на фотосинтез.

Спектр флуоресценции *Chl a* показан на рис. 7.15 [1]. Главная полоса 6850 Å и колебательный спутник 7400 Å отличаются колебательной энергией, отвечающей частоте  $1460 \text{ см}^{-1}$ , характерной для деформационного колебания  $\text{CH}_2$ -группы. При сильном освещении, превышающем насыщенное для фотосинтеза, квантовый выход флуоресценции примерно удваивается. Он возрастает также при низких

температурах. Квантовый выход сильно меняется при быстром переносе клеток из темноты на свет во время периода индукции фотосинтеза. Изменение флуоресценции в этом периоде отражает работу цепи переноса электронов.

Главная полоса испускания *Chl a in vivo*, обозначаемая F 685, в действительности содержит вторую более слабую компоненту в области 7000 Å. При возбуждении клеток хлореллы светом с  $\lambda$  4400 Å, поглощаемым *Chl a*, длинноволновая компонента сильнее, чем при возбуждении светом с  $\lambda$  4800 Å, поглощаемым *Chl b*. Следовательно, полоса флуоресценции при  $\lambda$  7200 Å (F 720) определяется ФС I. Главная полоса, напротив, относится к ФС II. В красных и сине-зеленых водорослях зеленый свет, поглощаемый фикобилинами, более эффективен для возбуждения флуоресценции *Chl a*, чем свет, поглощаемый самим *Chl a*. Фикобилины содержатся преимущественно в ФС II. Из этих фактов вновь следует, что имеются две формы хлоро-

филла  $a$  — флуоресцентная  $\text{Chl } a_{II}$  и нефлуоресцентная (слабо флуоресцентная)  $\text{Chl } a_I$ .

Допустим, что возбуждение молекулы завершается либо излучением с вероятностью  $f$ , либо внутренней конверсией, безызлучательным переходом, с вероятностью  $g$ . Число возбужденных молекул  $n$  удовлетворяет дифференциальному уравнению

$$\dot{n} = -(f + g)n \quad (7.4)$$

с решением

$$n(t) = n(0) \exp[-(f + g)t]. \quad (7.5)$$

Квантовый выход излучения равен

$$\Phi = \frac{1}{n(0)} \int_0^{\infty} f n(t) dt = \frac{f}{f + g}; \quad (7.6)$$

для среднего времени жизни имеем

$$\tau = \int_0^{\infty} t dn / \int_0^{\infty} dn = \frac{1}{f + g}. \quad (7.7)$$

Следовательно,  $\tau = \Phi \tau_0$ , где  $\tau_0 = 1/f$  — «естественное» время жизни в отсутствие тушения при  $g = 0$ . Для  $\text{Chl } a$   $\tau_0 = 15$  нс и квантовый выход *in vitro*  $\Phi = \tau/\tau_0 = 4,5/15 = 0,3$ . *In vivo* при слабом освещении  $\Phi = 0,05$ , при сильном —  $\Phi = 0,09$ , тогда как прямые измерения дают соответственно значения 0,03 и 0,06. Расхождение объясняется наличием значительной доли нефлуоресцирующего  $\text{Chl } a$  *in vivo*. Расхождение устранится, если не светится около половины всего хлорофилла  $a$ .

Спектр действия флуоресценции  $\text{Chl } a$  *in vivo*, т. е. зависимость  $\Phi$  от длины волны возбуждающего света, характеризуется, как и следовало ожидать, красным падением. Оно начинается в области 6750 Å. Красное падение, по-видимому, связано не с  $\text{Chl } a$  6800, а с минорной компонентой  $\text{Chl } a_I$  6950, наличествующей лишь в  $\text{FCS}$ , тогда как компоненты 6700 и 6800 присутствуют в обеих фотосинтетических системах и дают примерно равные вклады в флуоресценцию. Действительно, при деструкции  $\text{Chl } a$  6950 при помощи ультразвука красное падение исчезает.

Сложность флуоресценции  $\text{Chl } a$  *in vivo* подтверждается ее изменением во время индукционного периода фотосинтеза. Если клетки хлореллы подвергаются сильному освещению после длительного пребывания в темноте, выход  $\Phi$  практически мгновенно достигает некоторого уровня. Через несколько миллисе-

кунд  $\Phi$  повышается примерно втрое, потом слегка убывает, затем достигает максимального уровня, пятикратного по сравнению с начальным. После этого  $\Phi$  убывает до стационарного значения, достигаемого через несколько минут. Анализ такого поведения показывает, что за него ответственна полоса флуоресценции 6850 Å, относящаяся к ФС II. Слабая флуоресценция ФС I остается практически постоянной во времени.

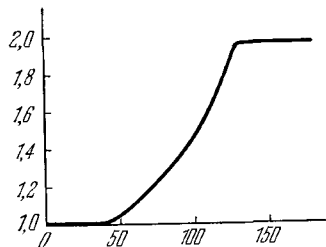


Рис. 7.16. Зависимость выхода флуоресценции (в условных единицах) *Porphyridium* от интенсивности освещения (в условных единицах).

При низких температурах полосы флуоресценции сужаются и уменьшается их перекрывание. Так, при 4 К были обнаружены три длинноволновые полосы испускания при 6890, 6980 и 7250 Å. Охлаждение способствует излучению из ловушек, энергетическая глубина которых оценивается в 1—2 кэВ при комнатной температуре, 5—8 кэВ при 77 К и 100—150 кэВ при 4 К. Полоса 6950 Å, наблюдаемая лишь при температурах ниже 140 К, возможно, обусловлена эмиссией из ловушек в ФС II. Полосы 6850 и 6980 Å возбуждаются главным образом при поглощении в ФС II, а полоса 7250 Å — при поглощении в ФС I [1].

В растворах хлорофилла, равно как и других красителей, интенсивность флуоресценции  $F$  пропорциональна интенсивности освещения  $I$ , т. е. квантовый выход флуоресценции не зависит от  $I$ . *In vivo*, однако, выход  $F/I$  идет к насыщению с ростом  $I$  (рис. 7.16) [1]. При насыщении фотосинтеза выход при-

Таблица 7.3

Некоторые характеристики двух фракций вещества хлоропластов [1]

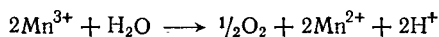
Свойства	Легкая фракция	Тяжелая фракция
Отношение Chl a/Chl b	5,3	2,3
Относительное содержание цитохрома	1	3
Отношение каротинол/каротин	1,9	3,3
Относительное содержание Fe	1—5	1
Относительное содержание Мп	1	5
Способность восстанавливать НАДФ <sup>+</sup>	Высокая	Низкая
Доля поляризации флуоресценции, возбужденной поляризованным светом, %	5,4	2,7
Квантовый выход флуоресценции	Низкий	Высокий
Спектр испускания при 77 К	Больше с $\lambda$ 7200 Å	Больше с $\lambda$ 6960 Å

мерно удваивается. Причина этого пока не ясна [1]. Изучение спектральных свойств хлоропластов позволило локализовать фотосинтетические системы — фракционирование вещества хлоропластов и исследование спектров поглощения и флуоресценции двух фракций — легкой и тяжелой — показывает, что легкая фракция содержит преимущественно ФС I, а тяжелая — ФС II (табл. 7.3).

Существенные аргументы в пользу функционирования двух пигментных систем следуют из изучения флуоресценции. Однако мы не располагаем пока сколько-нибудь полной интерпретацией флуоресценции растительных клеток *in vivo*.

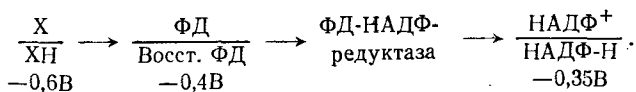
### § 7.5. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ ФОТОСИНТЕЗА

Основными продуктами двух первичных фотохимических реакций являются восстановленное промежуточное соединение ХН и окисленное Z (см. рис. 7.1). Окислитель Z окисляет  $H_2O$  до  $O_2$ , ХН восстанавливает  $CO_2$  до углевода. Процессы эти протекают с участием ферментов. Ферментативная система, участвующая в выделении  $O_2$ , содержит марганец. Установлено, что ион марганца участвует в реакции, фотокатализируемой ФС II (см. табл. 7.3). Пара  $Mn^{3+}/Mn^{2+}$  характеризуется высоким окислительно-восстановительным потенциалом (около 1,5 В). Можно предположить, что  $Mn^{2+}$  испытывает фотоокисление до  $Mn^{3+}$  во второй световой реакции, а затем  $Mn^{3+}$  окисляет воду в темновой реакции:



для чего нужно более чем +0,75 эВ. Конечно, речь здесь идет о  $Mn$  как кофакторе фермента.

Таким образом, предположительно Z есть фермент, содержащий трехвалентный марганец. Предполагалось, что X это НАДФ<sup>+</sup> (пара НАДФ<sup>+</sup>/НАДФ-Н имеет потенциал —0,35 В). В действительности имеется не менее чем два предшественника — железосодержащий белок ферредоксин ФД и фермент ферредоксин-НАДФ-редуктаза. Установлено, что освещенные хлоропласты восстанавливают пигмент вплоть до —0,6 В [44]. Предположительно потенциал X близок к этой величине. Схема возможных реакций [1] записывается в виде



Гораздо лучше известен химический путь, ведущий от  $CO_2$  (восстанавливаемого такими веществами, как НАДФ-Н) к углеводу.