

Действие двойного облучения резко неаддитивно. Эффект Эмерсона выражается величиной

$$\varepsilon = (x - y)/z,$$

где x — скорость выделения O_2 при двойном облучении, y — при коротковолновом, z — при длинноволновом облучении. Значение

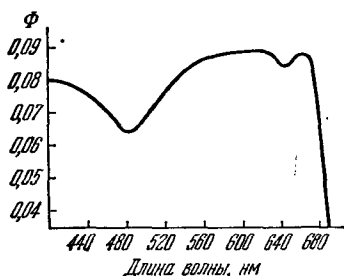


Рис. 14.5. Спектр действия для хлореллы

ε особенно велико, когда большая часть добавочного длинноволнового света поглощается вспомогательным пигментом. Для полной эффективности фотосинтеза нужно поглощение одного кванта хлорофиллом a и другого — вспомогательным пигментом. Красное падение происходит в области, в которой свет поглощает только $Chl a$. Детальное исследование показало, однако, что наряду с максимумами $\varepsilon(\lambda)$, соответствующими вспомогательным пигментам,

в полосе поглощения $Chl a$ имеется максимум при 680 нм. Этот максимум связан с резонансным переносом энергии возбуждения с других пигментов на активную форму $Chl a$.

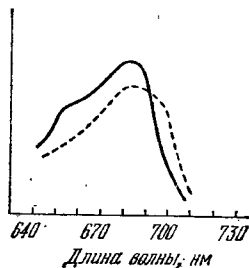
§ 14.2. Две фотохимические системы

Изложенные факты и другие данные, в частности биохимическое разделение, доказывают, что в фотосинтезе участвуют две фотохимические системы ФС I и ФС II. В зеленых растениях ФС II содержит $Chl a$ с максимумами поглощения 670 и 680 нм, но не 695 нм. ФС I содержит все три формы $Chl a$. ФС II флуоресцирует сильно, ФС I — слабо. Кванты, поглощенные хлорофиллом 670 и 680 нм, переносятся в ФС I на $Chl a$ 695, и энергия их диссипирует, чем и объясняется низкий выход флуоресценции. ФС II содержит больше $Chl a$ 670, чем ФС I. Свет поглощается в обеих системах одновременно, но в разной степени. При $\lambda > 650$ нм в красных водорослях и при $\lambda > 680$ нм в зеленых водорослях система I получает избыточную, а система II недостаточную энергию — нарушается баланс, необходимый для совместной работы двух систем. Баланс этот улучшается при одновременном освещении более коротковолновым светом. Так объясняется эффект Эмерсона и «красное падение».

Если световые реакции, определяемые ФС I и ФС II, происходят последовательно, то можно установить спектр поглощения каждой системы, измерив спектры действия фотосинтеза при сильном, но не насыщающем воздействии светом, поглощаемым другой системой. Скорость общей реакции при этом определяется лимитирующим процессом. Если избыточный свет поглощается ФС I, то скорость реакции и спектр действия лимитируются ФС II,

и наоборот. Таким способом были установлены спектры поглощения обеих систем (рис. 14.6). ФС I содержит больше Chl a 680 и 695 нм, ФС II — больше Chl a 670 нм и Chl b. Нельзя считать, что Chl a 670 сенсibiliзирует одну реакцию, а Chl a 680 — другую. Обе реакции связаны друг с другом относительно медленным темновым процессом. Эффект Эмерсона наблюдается и при

Рис. 14.6. Спектры поглощения ФС I (штриховая кривая) и ФС II (сплошная кривая) в хлорелле. По оси ординат — оптическая плотность



вхождении в реакционный сосуд двух взаимно перпендикулярных пучков света разной длины волны. При таких условиях коротко- и длинноволновый свет поглощается клетками водорослей в разное время. Эффект Эмерсона обнаруживается при прерывистом воздействии света с

разной длиной волны с интервалом между вспышками в несколько секунд. В красных водорослях *Porphyridium* выделение O_2 при вспышке зеленого света усиливается, если ей предшествует вспышка красного света, поглощаемого Chl a в ФС I. Значит, получается долгоживущее промежуточное соединение. Время его полураспада оценивается в 18 с. Напротив, выделение O_2 при вспышке красного света не усиливается, если ей предшествует вспышка зеленого; зеленый свет, поглощаемый ФС II, не создает долгоживущих промежуточных соединений.

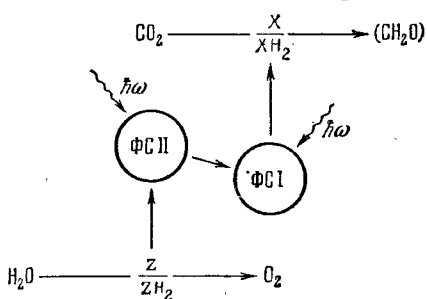


Рис. 14.7. Схема фотосинтеза с двумя стадиями, сенсibiliзированными ФС I и ФС II

На рис. 14.7 показана схема фотосинтеза, уточняющая схему на рис. 14.1.

Каким образом поглощенные кванты распределяются между двумя системами так, что они работают с одинаковыми скоростями? По-видимому, ФС I и ФС II пространственно разделены, как о том свидетельствуют опыты по фракционированию вещества хлоропластов. Сбалансированное возбуждение определяется наличием в обеих системах одинаковых пигментов, хотя и в разных пропорциях. Квантовый выход фотосинтеза должен при этом

иметь минимумы в областях, в которых одна из систем поглощает свет сильнее, чем другая. Соответствующая тонкая структура спектра действия наблюдается. Функционирует лабильный фотобелковый комплекс, перемещающийся из одной области тилакоида в другую.

Изучение дифференциальных спектров поглощения дало богатую информацию о двух фотохимических системах. Дифференциальные спектры исследуются при одновременном поглощении

Т а б л и ц а 14.1. Свойства хлорофиллов I и II (Витт)

Свойства	Chl a_I	Chl a_{II}
Тип реакции	Донор электрона	Сенсибилизатор (?)
Полосы поглощения, нм	438, 660, 682—703	435, 640, 682
Время появления, нс	≤ 20	≤ 0
Время жизни (20°C), мс	20	0.2
Область возбуждения	< 730	< 700
Температура инактивации, °C	65	45

света, возбуждающего фотосинтез, и слабого аналитического света. Возбуждающий пучок направлен перпендикулярно к аналитическому. Исследуются изменения в дифференциальном поглощении слабого света при наличии сильного монохроматического освещения (в частности, вспышечного) по сравнению с темнотой. Варьируя длину волны возбуждения, удается получить спектр действия и определить пигменты, сенсибилизирующие изменения в поглощении. Этот метод был развит Дейзенсом (1956), а вспышечная техника в работах Кока (1963) и Витта (1959). Вспышечная методика позволяет измерять времена жизни промежуточных соединений и времена их появления и исчезновения в интервале от 10^{-1} до 10^{-8} с.

Этими способами установлено участие каротиноида в фотосинтезе, переходящего при освещении в метастабильную форму. При избыточном освещении энергия диссипирует через эту форму. Каротиноиды защищают хлорофиллы от фотоокисления при избытке света. В фотоокислении участвуют специальные формы Chl a , входящие в фотореакционный центр. Фотоокисление Chl a_I (Chl a в ФС I) определяется переходом электронов на первичный акцептор с последующим переносом на НАДФ⁺. Установлена стехиометрия 1:1 окисления a_I и восстановления НАДФ⁺. Конечным донором электрона для Chl a_I служит вода.

Свет с $\lambda < 700$ нм вызывает обратимые изменения поглощения Chl a_I . За окислением следует восстановление в течение 20 мс. В области 700—730 нм окисление Chl a_I необратимо. Пигмент реакционного центра ФС II возбуждается лишь при $\lambda < 700$ нм. Это, по-видимому, также Chl a (Chl a_{II}). Различие

$\text{Chl } a_I$ и $\text{Chl } a_{II}$ определяется различием в их окружении. Время жизни $\text{Chl } a_{II}$ на два порядка меньше, чем $\text{Chl } a_I$. Свойства этих хлорофиллов представлены в табл. 14.1. Связь ФС I и ФС II осуществляется посредством подвижных переносчиков и переносчиков электронов, входящих в так называемый $b-f$ -комплекс.

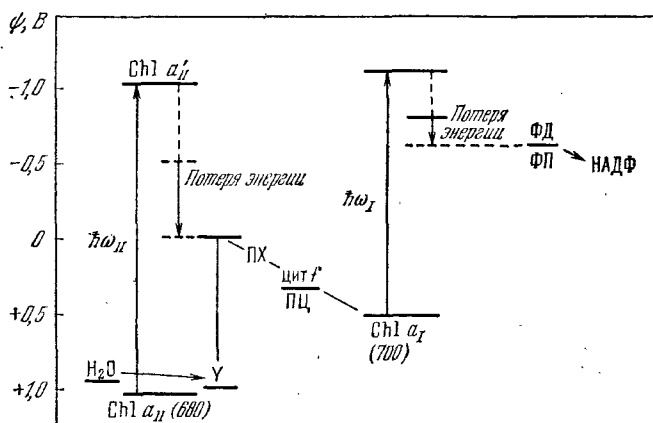


Рис. 14.8. Энергетическая схема событий в ФС I и ФС II: ПЦ — пластоцианин, ПХ — пластохинон, ФД — ферредоксин, ФП — флавопротеид

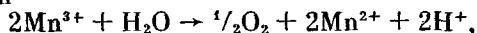
Комплекс этот содержит железо-серный белок, цитохром f , две молекулы цитохрома b_{563} и пластоцианин, являющийся связующим звеном между $b-f$ -комплексом и ФС I. Пластохиноны (ПХ), участвующие в окислительно-восстановительных реакциях, восстанавливаются до гидрохинона при переносе двух электронов от $\text{Chl } a_{II}$. ПХ расположены в виде «пула», содержащего примерно пять молекул, между ФС I и ФС II.

На рис. 14.8 показана энергетическая диаграмма событий в ФС I и ФС II, а на рис. 14.9 — общая схема фотосинтеза — так называемая Z-схема.

Ценные сведения о двух фотохимических системах дает изучение флуоресценции. Квантовый выход флуоресценции $\text{Chl } a$ (см. с. 452) составляет 30% *in vitro* и лишь 3—6% *in vivo*. Во втором случае флуоресцируют несколько форм $\text{Chl } a$, различающиеся спектрами испускания и квантовыми выходами. Малый квантовый выход *in vivo* определяется эффективностью фотосинтеза — чем больше энергии идет на фотосинтез, тем слабее флуоресценция.

Акцепторы электронов в ФС I (см. рис. 14.9) в конечном счете восстанавливают НАДФ^+ , который используется для фиксации CO_2 . НАДФ является донором электронов в темновых процессах фиксации CO_2 (см. рис. 14.1). Вещество Z окисляет H_2O до O_2 , XН_2 восстанавливает CO_2 . Эти процессы являются ферментативными. Ферментная система, участвующая в выделении O_2 ,

содержит марганец. Ион Mn^{2+} участвует в реакции, фотокатализируемой ФСИ. Конечный итог многоступенчатой реакции с участием Mn^{2+}



для чего нужна энергия, большая, чем +0,75 эВ.

В действительности имеется не менее двух предшественников — железосодержащий белок ферредоксин (ФД) и фермент

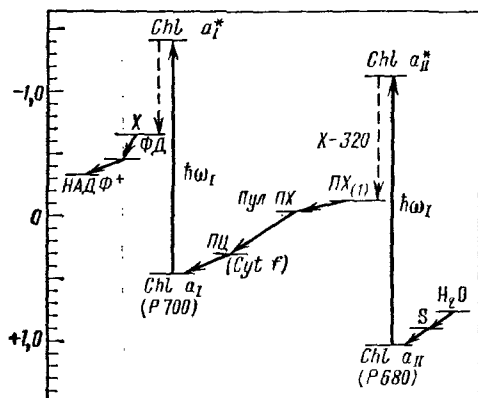
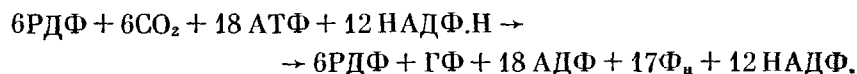
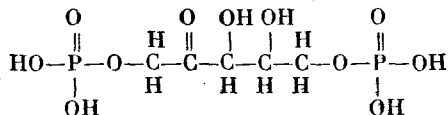


Рис. 14.9. Схема фотосинтеза (Витт); X, S — доноры и акцепторы электронов (потенциал — в вольтах)

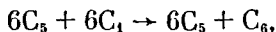
ферредоксин-НАДФ-редуктаза. Освещенные хлоропласты восстанавливают пигмент вплоть до $-0,60$ В. Предположительно потенциал X близок к этой величине. Путь, ведущий от CO_2 к углеводу, известен лучше благодаря работам Кальвина и сотрудников, использовавших радиоактивную метку ^{14}C . Уравнение, описывающее фиксацию CO_2 , имеет вид



Здесь РДФ — рибулозо-1,5-дифосфат

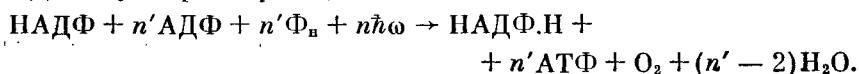


ГФ — гексозофосфат; РДФ — первичный акцептор CO_2 . Путь углерода в фотосинтез — последовательность темновых реакций — описывается циклом Кальвина, состоящим из 13 стадий. Выше написана суммарная реакция. В сокращенных обозначениях



где индексы означают число атомов углерода в молекуле. Упрощенная схема цикла Кальвина показана на рис. 14.10. Результирующий ГФ гидролизуется с отщеплением фосфата. На образование одной молекулы гексозы из 6 молекул CO_2 расходуется энергия 18 молекул АТФ. Эти молекулы образуются при переносе электронов в процессе фотосинтеза — фосфорилируется

АДФ. Суммарная реакция:



Эта реакция реализуется в полной системе с участием пигментных систем и цепи переноса электронов.

Миграция энергии от поглощавших свет молекул на реакционные центры происходит по резонансному механизму. В принципе возможны и другие механизмы миграции. При полупроводниковом механизме возбуждение молекулы светом переводит

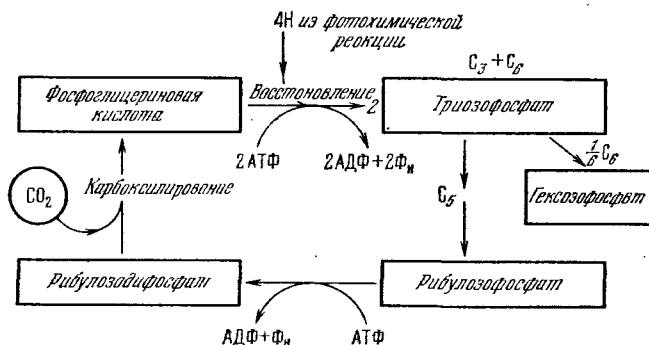


Рис. 14.10. Упрощенная схема цикла Кальвина

электрон в зону проводимости, после чего образовавшаяся пара разноименных зарядов (электрон и дырка) перемещается в упорядоченной молекулярной системе, в молекулярном кристалле. Однако в хлоропластах строгий порядок присущ лишь небольшим ансамблям молекул хлорофилла. Поэтому полупроводниковый механизм маловероятен. В то же время молекулярная упорядоченность в хлоропластах достаточна для миграции энергии по другим механизмам. Возможна миграция энергии триплетных возбужденных состояний или резонансная миграция экситонного или индуктивного типа. В двух последних случаях диполь-дипольное взаимодействие приводит к переносу энергии синглетного возбужденного состояния на невозбужденную молекулу. При экситонной миграции он происходит за времена, сравнимые с периодами колебаний — за $10^{-12} - 10^{-15}$ с, на расстояния до 1,5—1,8 нм. Это наиболее быстрый механизм. При миграции индуктивного типа ей предшествует установление термического равновесия возбужденной молекулы со средой, и скорость миграции сильно зависит от температуры. Ряд фактов свидетельствует в пользу быстрого экситонного механизма.

Первичные физические стадии фотосинтеза, начиная с поглощения кванта и кончая его захватом в реакционном центре, протекают за время, не превышающее ~ 100 нс. Эта величина на полтора-два порядка меньше характерных времен флуоресценции

молекул красителей, она является предельной для протекания реакций, лимитируемых диффузией. Такая быстрая миграция энергии обеспечивает высокий (более 90%) квантовый выход первичного процесса фотосинтеза.

§ 14.3. Хлоропласты

Фотосинтез происходит в органоидах растительных клеток, именуемых хлоропластами. На рис. 14.11 приведена электронная микрофотография среза хлоропласта из листа кукурузы. Диаметр хлоропласта 3—10 мкм, толщина 1,5—3 мкм. Хлоропласт заполняет почти всю клетку зеленой водоросли. На рис. 14.11 видны примерно параллельные *ламеллы*, погруженные в более светлую строму. У высших растений ламеллы образуют стопки, называемые *гранами*. Ламеллы представляют собой сечения уплощенных замкнутых мешочков — *тилакоидов*, имеющих диаметр около 500 нм. Их число в хлоропласте порядка 1000. Модель структуры хлоропласта показана на рис. 14.12. Процессы фотосинтеза локализованы в мембранах тилакоидов, в которых содержатся активные пигменты, прежде всего хлорофилл. Фрагменты тилакоидов реализуют реакции фотоиндуцированного транспорта электронов и сопряженное с ним фотофосфорилирование. В мембранах находятся светособирающие и электронно-транспортные комплексы, и АТФ-синтетазы хлоропластов.

Исследование тилакоидов методом электронной микроскопии показывает, что они содержат регулярные кристаллоподобные

Т а б л и ц а 14.2. Состав граны из тилакоида шпината

Липидная фракция (число молекул)	М. м.	Белковая фракция	М. м.
230 хлорофиллов	206 400	Белки	928 000
48 каротиноидов	27 400	2 атома Mn	110
48 хинонов	31 800	12 атомов Fe	672
116 фосфолипидов	90 800	6 атомов Cu	218
144 дигалактозилдиглицеридов	134 000		
366 моногалактозилдиглицеридов	268 000		
48 сульфолипидов	41 000		
Стероиды	15 000		
Неидентифицированные липиды	175 000		
И т о г о	989 400	И т о г о	929 000

системы плотно упакованных гран. Граны в тилакоидах шпината имеют размеры $18,5 \times 15,5 \times 10 \text{ нм}^3$. М. м. граны оценивается в $2 \cdot 10^6$. Зная состав ламелл, можно определить число молекул различных веществ в гране. Соответствующие данные приведены в табл. 14.2.