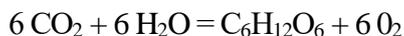


Лекція ФІЗІОЛОГІЯ ФОТОСИНТЕЗУ

Пігментний апарат рослин.

Фотосинтез – це процес трансформації енергії квантів світла в енергію хімічних зв'язків органічних речовин. Тобто це процес синтезу органічних сполук (глюкоза) з неорганічних (CO_2 і H_2O) за рахунок поглиненої енергії світла.



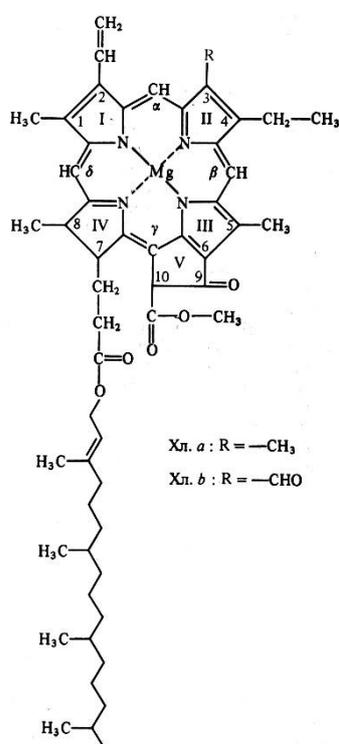
Фотосинтез здійснюють вищі рослини, водорості і деякі бактерії. Він є основним процесом надходження енергії в екосистемі біосфери.

До фотосинтезу здатні лише зелені частини рослини. Найголовніша з них – лист, плоска форма якого добре пристосована до вловлювання сонячного світла. Основну функцію зі здійснення фотосинтезу виконують хлоропласти стовпчастого і губчатого мезофілу (це 1-5 млн клітин на 1 cm^2 поверхні листка), а надходження CO_2 у внутрішні порожнини листка здійснюється крізь продихи.

Пігменти - найважливіший компонент апарату фотосинтезу. Вперше розділені пігменти зеленого листка були в 1903 році М.С.Цветом за допомогою адсорбційної хроматографії.

Пігменти пластид відносяться до трьох класів речовин: хлорофіли, фікобіліни і каротиноїди.

Хлорофіл. Основу молекули хлорофілу, як і гемоглобіну, складає порфіринове кільце. Елементарний склад молекули *хл а* – $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$ і *хл б* – $\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$. Структура була розшифрована німецьким біохіміком Г.Фішером.



Хлорофіл – це складний ефір дікарбонової кислоти хлорофіліна, у якій одна карбоксильна група етерифікована залишком метилового спирту, а інша - залишком одноатомного ненасиченого спирту фітолу.

Порфіринове ядро утворено 4 пірольними кільцями, атоми азоту яких сполучені координаційними зв'язками з атомом магнію, а в цілому структура представляє собою систему чергуючихся кон'югованих подвійних та простих зв'язків з 18 делокалізованими π -електронами.

У вищих рослин та водоростей виявлені *хл а, б, с, д*. При цьому *хл а* є у всіх фотосинтетиків, *хл б* - у вищих рослин, зелених водоростей та евгленових, *хл с* - у бурих та діатомових водоростей, *хл д* - у червоних водоростей, у бактерій – бактеріохлорофіли.

Синтезується хлорофіл в рослинах в хлоропластах з C_5 -дікарбонових кислот (наприклад, глутамінової). Хлорофіли добре розчинні в етиловому спирті, бензолі, ацетоні, етиловому ефірі, погано розчинні в петролейному ефірі і нерозчинні у воді.

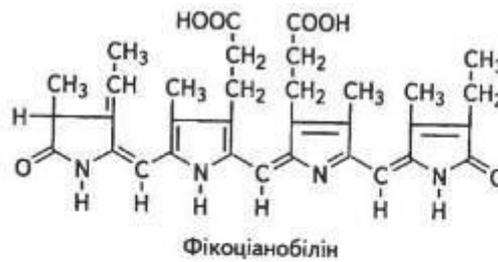
Розчин хлорофілу *а* має синьо-зелене забарвлення, хлорофілу *б* – жовто-зелене. Максимуми поглинання хлорофілів лежать в червоній і синій частині спектру: 660-663 і 428-430; і 642-644 і 452-455 нм відповідно. Хлорофіли слабо поглинають жовті промені і зовсім не поглинають зелені і інфрачервоні. Поглинання в синьо-фіолетовій частині спектру обумовлено системою кон'югованих одинарних і подвійних зв'язків порфіринового кільця молекули хлорофілу, а в червоній області – присутністю магнію.

У розчинах хлорофілів в полярних розчинниках спостерігається яскраво рубіново-червона *флуоресценція* (люмінісценція) і *фосфоресценція* (тривале випромінювання в інфрачервоній частині спектра). Механізм цих явищ полягає в тому, що електрони пігментів за рахунок енергії світла з основного синглетного енергетичного стану (S_0) на 10^{-13} – 10^{-9} с переходять в збуджений синглетний стан (S^*) або на 10^{-4} с - в триплетний (T^*), якщо спостерігається обертання спину. Повернення молекули в основний стан супроводжується випромінюванням кванта світла з більшою довжиною хвилі (правило Стокса), тобто червоного в першому випадку і інфрачервоного в другому.

Якщо ж хлорофіл знаходиться у складі світлопоглинаючого комплексу і закріплений за допомогою фітола в мембрані тілакоїда хлоропласту, то енергія збудженого стану використовується на фотохімічні реакції фотосинтезу.

Фікобіліни водоростей за структурою відносяться до групи жовчних пігментів. Це тетрапіроли з відкритим ланцюгом, мають систему кон'югованих подвійних і одинарних зв'язків, зазвичай пов'язані з глобуліновими білками. Розрізняють: 1) фікоеретрини - червоні з максимумами

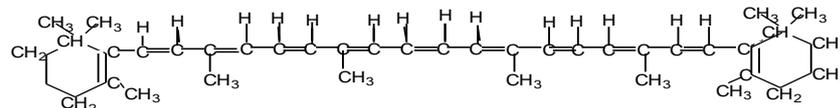
поглинання 498-568 нм; 2) фікоціаніни – блакитно-сині, 585-630 нм і 3) алофікоціаніни - сині, 585-650 нм.



Значення фікобілінів – виконують роль додаткових пігментів, оскільки максимуми їх поглинання лежать в жовтогарячій, жовтій і зеленій частинах спектру. Значення цього проміння зростає з глибиною, тому що вода має здатність поглинати в першу чергу довгохвильове (червоне) проміння.

Каротиноїди – жиророзчинні пігменти жовтого, жовтогарячого, червоного забарвлення – присутні в хлоропластах всіх рослин. До них відносять 1) жовтогарячі і червоні каротини ($C_{40}H_{56}$); 2) жовті ксантофіли ($C_{40}H_{56}O_2$ і $C_{40}H_{56}O_4$). Каротини і ксантофіли добре розчинні в хлороформі, бензолі, ацетоні. Каротини легко розчинні в петролейному і діетиловому ефірі, але майже не розчинні в метанолі і етанолі. Ксантофіли добре розчинні в спиртах і значно гірше в петролейному ефірі.

Всі каротиноїди – полієнові сполуки, що складаються з восьми залишків ізопрена (C_5H_8), які утворюють ланцюг кон'югованих подвійних зв'язків за звичай з циклами на кінцях.



До цієї групи пігментів відносять лютеїн, зеаксантин кукурудзи, віолаксантин і фукоксантин бурих водоростей. Синтезуються каротиноїди з ацетил-СоА через мевалонову кислоту.

Спектри поглинання каротиноїдів характеризуються двома смугами у фіолетово-синій і синій області від 400 до 500 нм і визначаються системою кон'югованих подвійних зв'язків.

Каротиноїди – обов'язкові компоненти пігментних систем всіх фотосинтезуючих організмів. Основні функції: 1) участь у якості додаткових пігментів при поглинанні світла; 2) захист молекул хлорофілів від необоротного фотоокислення.

Фотосистеми

Вперше ідею про те, що в хлоропластах існує як мінімум дві пігментні системи виказав Р.Емерсон в 1957. Виявилося, що сумарний ефект (квантовий вихід) фотосинтезу був вищим при освітленні хлорели одночасно короткохвильовим (650 нм) і довгохвильовим (700 нм) світлом – *ефект посилення Емерсона*.

Пізніше вдалося виділити і вивчити комплекси **фотосистеми I** і **фотосистеми II** (ФС I, ФС II).

Кожна ФС складається з антенного або світлозбираючого комплексу (СЗК) з 200-400 молекул пігментів і реакційного центру.

До складу ФС I як реакційний центр входить димер хлорофілу $a P_{700}$, а антенний комплекс – це хромопротеїни, що містять 110 молекул хлорофілів a з максимумами поглинання 680-695 нм, 80-100 молекул хлорофілу b і β -каротин.

Разом з нециклічним в мембранах хлоропластів функціонує циклічний транспорт електронів, який включає тільки ФСІ і комплекс цитохромів *b₆-f*. В цьому випадку NADP⁺ не відновлюється і енергія, що вивільняється, використовується лише для фосфорилування ADP.

Фотофосфорилування.

Енергія, що вивільняється при транспорті електронів від P₆₈₀ (E₀=-0,8В) до P₇₀₀ (E₀=+0,4В), складає >50 кДж та використовується для синтезу АТФ з АДФ і фосфору неорганічного.

Механізм фотофосфорилування, пов'язаного з діяльністю електротранспортного ланцюга, пояснює хеміосмотична теорія П.Мітчелла. Сутність теорії полягає в наступному. Ланцюг переносників електронів і протонів, працюючий відповідно до окислювально-відновного градієнта, перешнуровує мембрану таким чином, що трансмембранне перенесення електронів і протонів Н⁺ в одну сторону сполучається з перенесенням у зворотний бік тільки електронів. В результаті функціонування такого механізму (Н⁺-помпи) по одну сторону мембрани накопичується надлишок Н⁺ і виникає електрохімічний (тобто електричний і концентраційний) градієнт іонів Н⁺, який служить формою запасання енергії. Зворотний пасивний виток протонів Н⁺ крізь протонний канал Н⁺-АТФ-ази супроводжується утворенням високоенергетичного зв'язку АТФ.

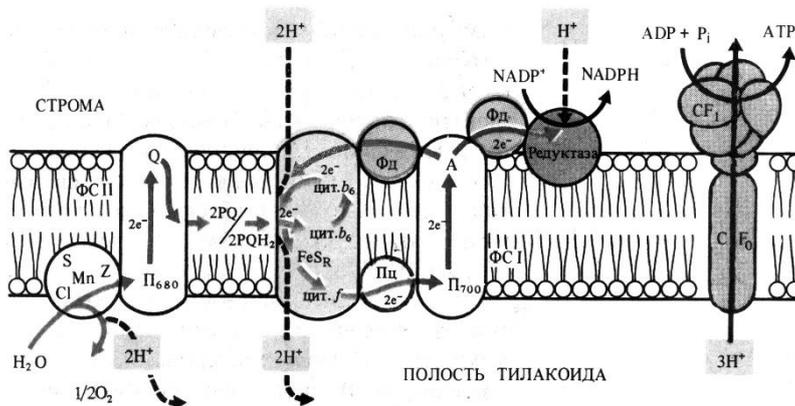


Рис. 6. Локалізація електрон- і протонтранспортних реакцій на тілакоїдній мембрані хлоропласту

В результаті фотохімічних реакцій в хлоропластах створюється необхідний рівень АТФ і NADPH·H⁺, які необхідні для функціонування темної стадії фотосинтезу, де CO₂ відновлюється до вуглеводу.

Темнова стадія фотосинтезу. Цикл Кальвіна. С4-путь. САМ-метаболізм.

Існують різні шляхи відновлення CO₂.

1) С₃-фотосинтез або цикл Кальвіна.

Цей спосіб асиміляції властивий всім рослинам і був вперше описаний американським біохіміком М.Кальвіном в 1956 р. За допомогою міченого ¹⁴CO₂ вдалося знайти, що первинним стійким продуктом фіксації вуглекислого газу є С₃ – сполука - фосфогліцерінова кислота (ФГК). Це й дало назву шляху. Первинним акцептором CO₂ є рибулозо-1,5-біфосфат (РБФ). Весь процес складається з трьох етапів:

-*Карбоксилювання*. Молекула рибулозо-5-фосфата фосфорилується за участю АТФ, а до утвореного РДФ за допомогою РДФ-карбоксилази приєднується CO₂, що поступив в мезофіл крізь породи. Одержаний продукт тут же розпадається на дві тріози : дві молекули 3-ФГК.

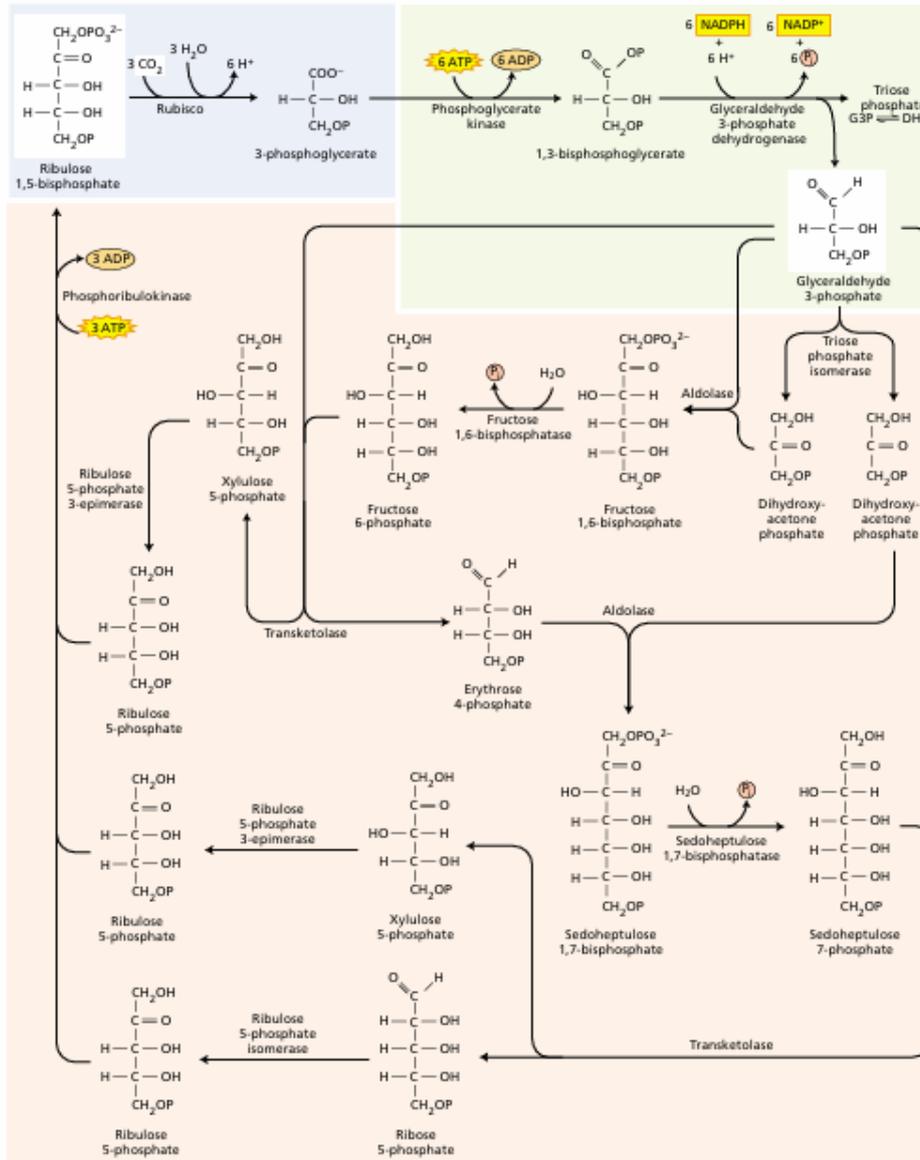


Рис.7. Цикл Кальвіна (C₃-шлях фотосинтезу)

-Фаза відновлення. 3-ФГК відновлюється до 3-ФГА (альдегіду) в два етапи: спочатку відбувається фосфорилювання 3-ФГК за допомогою АТР до 1,3-ФГК, а потім її відновлення до 1,3-ФГА за допомогою NADPHH⁺ і дегідрогенази фосфоглицеринового альдегіду.

-Фаза регенерації первинного акцептора CO₂ і синтезу кінцевого продукту фотосинтезу. При фіксації 3 молекул CO₂ з тих, шести 3-ФГА, що утворилися, п'ять використовуються для регенерації рибулозо-5-фосфата, а один йде на синтез глюкози. Регенерація здійснюється за допомогою ферментів ізомераз, транскетолаз і альдолаз крізь проміжні C₄, C₆, C₇-сполуки.

З невикористаної шостої молекули 3-ФГА, що залишилася, при повторенні циклу синтезується фруктозо-1,6-діфосфат, з якого можуть утворюватися глюкоза, сахароза і крохмаль.

2) C₄-шлях фотосинтезу (Цикл Хетча і Слека).

До групи рослин з C₄-шляхом фотосинтезу відносяться цукровий очерет, кукурудза, сорго і ін. Листя цих рослин містить два різні типи хлоропластів: хлоропласти звичайного вигляду – в клітинах мезофілу і велику кількість крупних хлоропластів в клітинах, оточуючих провідні пучки (обкладка).

CO₂ потрапляє в цитоплазму клітин мезофілу, де за участю ФЕП-карбоксилази вступає в реакцію з фосфоенолпіруватом (ФЕП), утворюючи щавелевооцтову кислоту (оксалоацетат). Потім вже в хлоропластах оксалоацетат відновлюється до яблучної кислоти (малата) за рахунок

$\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$, що утворюється в ході світлової стадії фотосинтезу. Потім малат переноситься в хлоропласти клітин обкладки судинного пучка, де він декарбоксилюється малатдегідрогеназою декарбоксилюючою до пірувата та CO_2 . CO_2 вступає в цикл Кальвіна, а піруват повертається в хлоропласти клітин мезофілу.

Така компартменталізація процесу фіксації і використання CO_2 дозволяє рослинам з C_4 -метаболизмом здійснювати фотосинтез навіть при закритих продихах (в посушливі або засолені умови), оскільки хлоропласти клітин обкладки використовують як донор CO_2 малат, що утворився раніше. C_4 -рослини можуть також використовувати CO_2 , що виникає при фотодиханні.

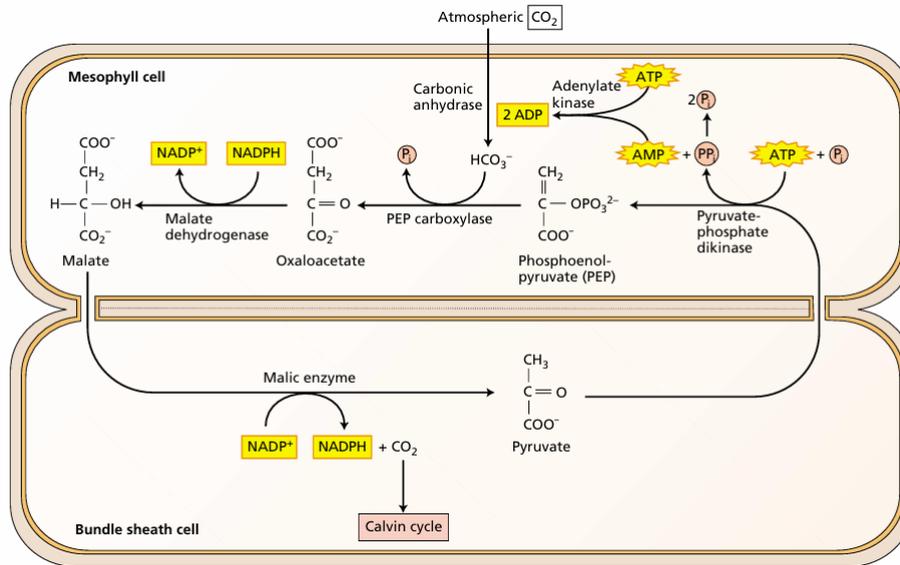


Рис.8. Цикл Хетча і Слека (C_4 -шлях фотосинтезу)

3) САМ-метаболізм (за типом толстянкових)

У сукулентів спостерігається добовий цикл метаболізму C_4 -кислот з утворенням яблучної кислоти вночі. Цей тип фотосинтезу називають САМ-метаболізм (crassulacean acid metabolism). Продихи цих рослин вдень за звичай закриті, що запобігає втраті води, і відкриваються вночі. CO_2 поступає в листя, де взаємодіє з ФЕП, утворюючи щавелевооцтову кислоту (оксалоацетат), яка відновлюється до яблучної кислоти. Вона накопичується у вакуолях клітин листка, що призводить до підкислення клітинного соку в нічний час.

Вдень в умовах високої температури, коли продихи закриті, малат транспортується з вакуолей в цитоплазму і там декарбоксилюється за участю малатдегідрогенази декарбоксилюючої (малік-ензима) з утворенням CO_2 і пірувата. CO_2 поступає в хлоропласти і включається в них в цикл Кальвіна, беручи участь в синтезі вуглеводів.

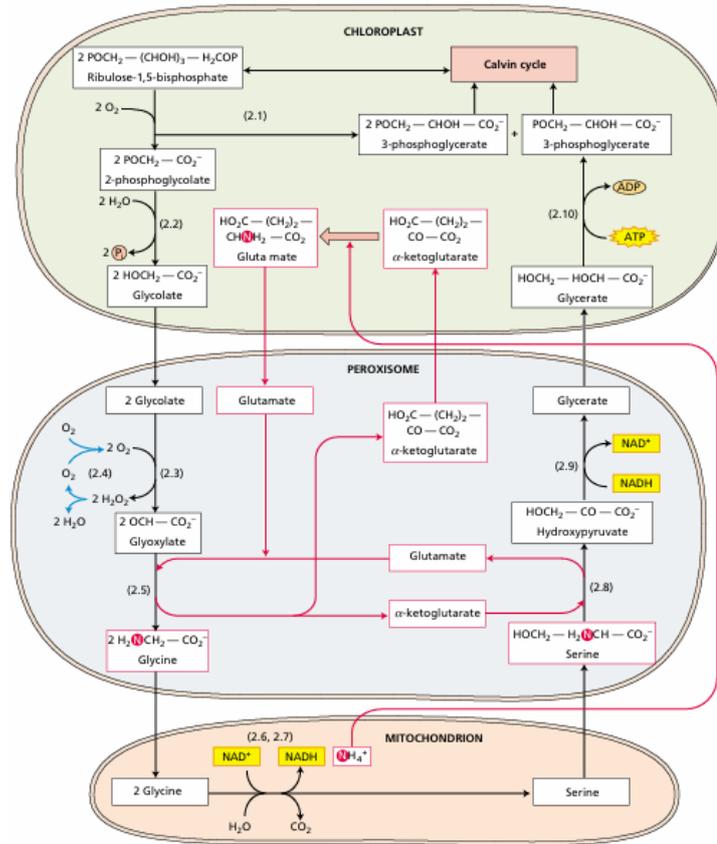
Фотодихання

Фотодихання – це процес вивільнення CO_2 і поглинання O_2 , що активується світлом, тобто процес, зворотний фотосинтезу. Цей процес посилюється при низькому вмісті CO_2 і високих концентраціях O_2 або при підвищенні температури. В цих умовах РДФ-карбоксилаза в хлоропластах може функціонувати як оксигеназа, яка каталізує окислювальне розщеплення рибулозо-1,5-діфосфата на 3-ФГК і 2-фосфогліколеву кислоту, яка дефосфорилується в гліколеву кислоту.

Гліколат з хлоропластів поступає в пероксисому і там окислюється до гліоксилату. Перекис водню, що при цьому утворюється, усувається каталазою. Гліоксилат амінується, перетворюючись на гліцин і транспортується в мітохондрію.

В мітохондрії з двох молекул гліцину утворюється серин і вивільняється CO_2 . Серин може знову поступати в пероксисому, де трансамінується з піруватом. Утворений гідроксіпіруват відновлюється до гліцерату, який може знову поступати в хлоропласти і включатися в цикл Кальвіна.

У C_4 -рослин CO_2 , що вивільняється при фотодиханні, перехоплюється в клітинах мезофілу, де з нього утворюються оксалоацетат і малат.



Екологія фотосинтезу

Фотосинтез здійснюється в напівавтономних органелах – хлоропластах. Проте він значною мірою контролюється іншими процесами, що відбуваються в рослині, і факторами зовнішнього середовища.

Відтік асимілянтів. Накопичення фотоасимілянтів в хлоропластах і в навколопластидному просторі призводить до інгібування ферментів, що беруть участь у фотосинтезі.

Вік листа і рослини. В ході росту листа інтенсивність фотосинтезу збільшується. Після закінчення росту листа вона поступово знижується. У багатьох однорічних рослин інтенсивність фотосинтезу сягає максимуму у фазі бутонізації і цвітіння, а потім знижується.

Світло. Є нижній поріг освітленості, при якому рослини починають фотосинтезувати. Потім залежність інтенсивності фотосинтезу від освітленості має логарифмічний характер з подальшим виходом на плато. Кут нахилу кривої залежності інтенсивності фотосинтезу від освітленості залежить від впливу інших чинників. Так, у світлолюбних рослин вона виходить на плато при значно більш високій освітленості, ніж у тіньовитривалих рослин. Рівень освітлення, при якому поглинання CO_2 в ході фотосинтезу дорівнює виділенню CO_2 в процесі дихання, називається *компенсаційним пунктом*.

Важливим є і спектральний склад світла. При освітленні червоним світлом утворюються переважно вуглеводи, синім - аміно- і органічні кислоти.

Температура. При низькій освітленості фотосинтез йде з однаковою швидкістю при 15 і 25°C. Це пояснюється тим, що при низькій освітленості інтенсивність фотосинтезу залежить від швидкості світлових реакцій. При високій освітленості інтенсивність фотосинтезу лімітується швидкістю темнових реакцій і Q_{10} приблизно дорівнює 2. Для більшості рослин C_3 -типу оптимальна температура 20-25°C, для рослин C_4 -типу - 25-40°C. При температурі вище за оптимальну інтенсивність фотосинтезу знижується через інактивацію ферментів хлоропластів і закриття продихових щілин.

Вміст CO_2 в повітрі. Підвищення вмісту CO_2 з 0,03 % до 0,3 % викликає збільшення інтенсивності фотосинтезу. Подальше зростання концентрації CO_2 до 1 % не позначається на фотосинтезі, але більш високий рівень CO_2 в повітрі призводить до депресії фотосинтезу. Високі концентрації CO_2 особливо несприятливі при високому рівні освітленості, оскільки відбувається

інгібірування темнових реакцій. Вплив вмісту вуглекислого газу на фотосинтез залежить від виду рослини.

Водозабезпечення. При значному водному дефіциті інтенсивність фотосинтезу знижується через закриття продихів, що зменшує надходження CO_2 в листя, знижує транспірацію і призводить до підвищення температури листка. Крім того, зневоднення змінює конформацію і, отже, активність ферментів.

Вміст кисню в повітрі, в середньому, дорівнює 21 %. Підвищення концентрації або відсутність кисню для фотосинтезу є несприятливим. Кисень знижує активність рибулозодіфосфаткарбоксилази.

Мінеральне живлення. Виключення будь-якого елемента мінерального живлення негативно позначається на фотосинтезі. Особливо важливі такі елементи як фосфор, магній, залізо, марганець, мідь, калій і азот. На всіх етапах фотосинтезу беруть участь фосфорильовані сполуки. Калій активує процеси фосфорилування і бере участь у відкритті продихів. Магній входить до складу хлорофілів, активує реакції карбоксилювання і відновлення НАДР. Залізо необхідне для синтезу хлорофілів. Марганець бере участь у фотолізі води. Мідь входить до складу пластоцианіну. Азот необхідний для формування хлоропластів і утворення пігментів.

Значення фотосинтезуючих організмів для біосфери

Виділяють п'ять основних аспектів планетарної ролі фотосинтезуючих організмів.

Накопичення органічної маси. В процесі фотосинтезу наземні рослини утворюють до 170 млрд. тонн, а рослини світового океану – до 70 млрд. тон біомаси на рік в перерахунку на суху речовину, що використовується гетеротрофними організмами.

Забезпечення постійного вмісту CO_2 в повітрі. Зв'язування CO_2 в ході фотосинтезу значною мірою компенсує його виділення в результаті інших процесів (дихання, бродіння, діяльність вулканів, виробнича діяльність людства).

Перешкода розвитку парникового ефекту. Частина сонячного світла відбивається від поверхні Землі у вигляді теплового інфрачервоного випромінювання. CO_2 поглинає інфрачервоне випромінювання і тим самим зберігає тепло на Землі. Підвищення вмісту CO_2 в атмосфері сприяє збільшенню температури, тобто створює парниковий ефект. Це призводить до затоплення прибережних зон через підняття рівня світового океану в результаті танення льодовиків в горах і на полюсах. Проте високий вміст CO_2 в повітрі активує фотосинтез і, отже, концентрація CO_2 в повітрі знову зменшується.

Накопичення кисню в атмосфері. Спочатку в атмосфері Землі кисню було дуже мало. Зараз його вміст складає 21 % за об'ємом повітря. В основному, цей кисень є продуктом фотосинтезу. Щорічно рослини і інші фотосинтезуючі організми поставляють в атмосферу приблизно 120 млрд. тонн кисню.

Озоновий екран. Озон (O_3) утворюється в результаті фотодисоціації молекул кисню під дією сонячної радіації на висоті близько 25 км. Озон затримує значну частину ультрафіолетового світла, згубного для всього живого.