

7. ФОТОСИНТЕЗА: СИНТЕЗА НА ОРГАНСКИТЕ СОЕДИНЕНИЈА

При процесот на фотосинтеза, светлосната енергија што ја апсорбираат пигментите се врзува во форма на АТР и редуциран NADP. Овие две соединенија претставуваат извор на енергијата што се користи за синтеза на органски соединенија во оние процеси во кои светлината не е непосредно потребна. Така, во темната фаза од процесот на фотосинтеза се апсорбира CO_2 и се вградува во органските соединенија. Всушност, скробот и сахарозата се најпознати производи на фотосинтезата и тие лесно можат да се докажат во листовите во присуство на светлина, но, патиштата на нивното формирање подетално се проучени дури во педесетите години од минатиот век со експериментите на повеќе истражувачи од екипата на Мелвин Калвин (M. Calvin, A. Benson и J. Basham). Овие истражувачи покажале дека јаглеродот од CO_2 влегува во еден цикличен процес, кој подоцна е наречен Калвинов циклус. За оваа научна работа, Калвин ја добил Нобеловата награда за хемија во 1961 година. Имено, Калвин и неговата научноистражувачка екипа со примена на изотопот на јаглерод ^{14}C , како и со примена на хроматографски методи поврзани со автордиографија извршиле прецизна идентификација на обележаните супстанции.

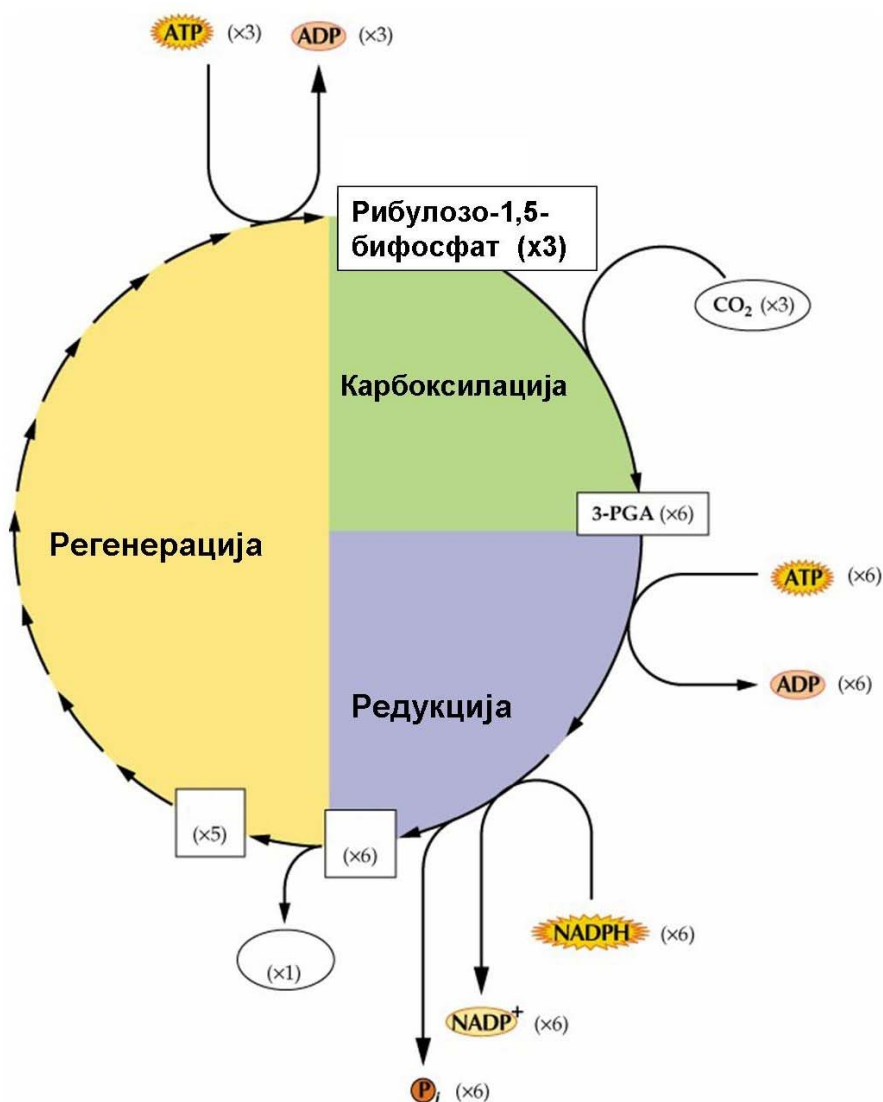
Поновите истражувања покажале дека во темната фаза од фотосинтезата постојат и други биохемиски процеси, кои го дополнуваат Калвиновиот циклус. Имено, првото стабилно соединение што се создава во текот на овој циклус има три јаглеродни атоми и поради тоа Калвиновиот циклус се вика **С-3 фотосинтетски редукциски пентозен циклус**, а растенијата кои го врзуваат CO_2 на ваков начин се викаат С-3 растенија. За разлика од нив, некои групи растенија го фиксираат CO_2 на друг начин, така што кај нив првото соединение има 4 јаглеродни атоми и поради тоа тој процес се вика **С-4 тип на асимилација на CO_2** и е застапен кај С-4 растенијата и сукулентите. Кај С-3 растенијата постои посебен начин на понтамошниот метаболизам на асимилираниот CO_2 , во кој клучното соединение има два јаглерода, и затоа тој процес е наречен **С-2 фотореспираторен циклус**. Имено, додека редукцискиот пентозен циклус се врши во присуство на светлина, во хлоропластот на темно се вршат реверзни процеси кои се слични на оксидациониот пентозен циклус во цитоплазмата. Кај зелените фотосинтетски бактерии се јавува посебен начин на асимилација и редукција на CO_2 што претставува реверзија на оксидациониот циклус на трикарбонските киселини. Важно е да се нагласи дека примарните производи при асимилација на CO_2 се користат за синтеза на разни секундарни соединенија, особено сахароза и скроб, кои се синтетизираат во хлоропластот или во цитоплазмата. Биосинтетските патишта на сите други соединенија во растението се изведуваат од наведените примарни процеси.

7.1 Редукциски фотосинтетски циклус

7.1.1 Примена на изотопот ^{14}C

Првите испитувања на М. Калвин за редукцискиот фотосинтетски циклус биле направени со примена на суспензија на клетки од еноклеточните алги *Chlorella* и *Scenedesmus*. Алгите се наоѓале во стаклен сад со хранлив раствор во кој условите овозможувале фотосинтезата да се одвива интензивно и рамномерно. Со помош на странична пумпа (P) постојано се меша суспензијата, а дел од неа може да се испушти низ пластичната цевка со помош на монтираната славина (S). Во еден момент во пластичната цевка се инјектира $^{14}\text{CO}_2$, а потоа дел од суспензијата се испушта во садот со метанол загреан до вриење. На ваков начин се инактивираат сите ензими и се прекинуваат сите биохемиски реакции. Потоа, метанолниот

екстракт се хроматографира и радиоактивните супстанции се детектираат на хроматограмот со помош на автордиографија. Во различни експерименти варијало времето од додавањето на $^{14}\text{CO}_2$ до прекинувањето на реакцијата и според тоа биле анализирани екстракти добиени од 2 до 60 секунди после обелувањето со $^{14}\text{CO}_2$. За анализа била применета дводимензионална хроматографија и добиените хроматограми биле покриени со рендгенски филм. Бидејќи ^{14}C емитува β -зраци, на филмот се појавуваат темни зони на оние места на кои се наоѓаат обележаните соединенија. На ваков начин било потврдено дека по 2 секунди од додавањето на $^{14}\text{CO}_2$ во метанолниот екстракт се создава **3-фосфоглицеринската киселина** (3-PGA = 3-phosphoglyceric acid) или **3-фосфоглицерат**. По 60 секунди биле создадени повеќе соединенија кои содржеле ^{14}C , меѓу кои имало фосфорилирани шеќери со 3-7 јаглероди (триози-хептози), некои органски киселини (јаболкова, фосфоенолпирогроздова и гликолна киселина), аминокиселините: аланин, глицин, серин, аспарагинска и глутаминска киселина. Меѓутоа, многу години биле потребни за да се утврди како се добива 3-PGA, кои се главните патишта за нејзина трансформација и на кој начин од неа се создаваат сите други соединенија што содржат ^{14}C . Притоа, било докажано дека сите овие реакции прават еден цикличен процес познат како **редукциски пентозен циклус** или **Калвинов циклус**. Подоцна, Калвиновиот циклус бил признат како основен фотосинтетски пат за сите автотрофни организми (Robinson и Walker, 1981).



Сл. 7.1 Шематски приказ на трите фази на Калвиновиот циклус (Buchanan и сор., 2002).

7.2 Редукциски пентозен циклус (Калвинов циклус)

Во редукцискиот фотосинтетски циклус се разликуваат три фази (Сл. 7.1):

- фиксација на CO_2 ,
- редукција на јаглородот,
- регенерација на акцепторот на CO_2 .

7.2.1 Фиксација на CO_2

Прв акцептор на CO_2 е шеќерот со 5 јаглородни атоми **рибулоза-1,5-бифосфат (Ru-1,5-BP)**. Прв производ при фиксација на CO_2 е **3-фосфоглицеринската киселина (3-PGA)** или **3-фосфоглицерат**. При формирање на 3-PGA постојат два степени, **карбоксилација** и **хидролиза**. При карбоксилација се добива **2-карбокси-3-кето-D-арабинитол-1,5-бифосфат**, едно интермедиерно нестабилно соединение со 6 јаглородни атоми, кое веднаш со примање на вода (хидролиза) се распаѓа на две молекули **3-PGA** (Сл. 7.2).

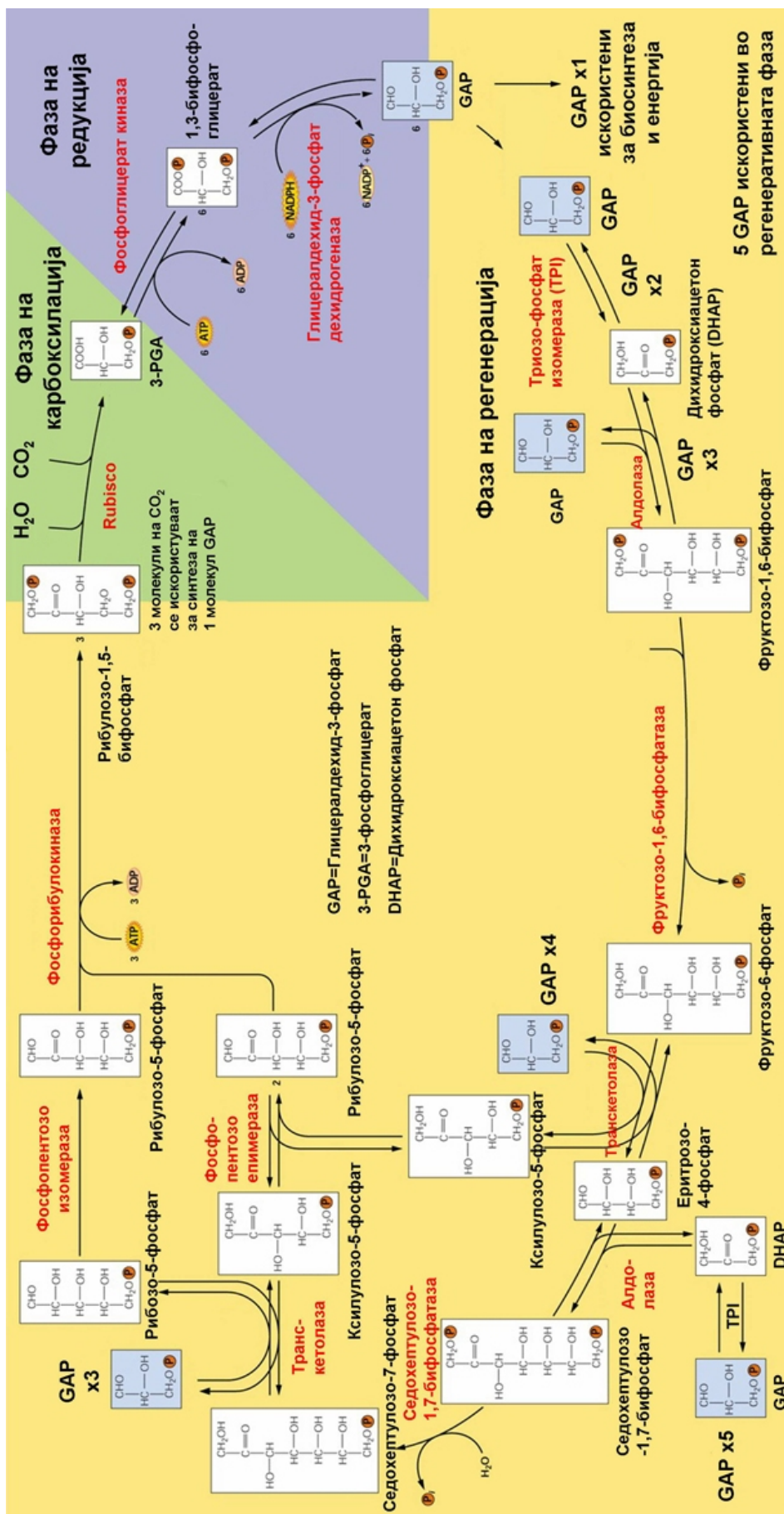
При врзување на CO_2 за Ru-1,5-BP учествува ензимот **рибулоза-1,5-бифосфатна карбоксилаза-оксигеназа**, а денес се користи кратенката **Rubisco**. Во средината во која дејствува ензимот секогаш е присутен HCO_3^- , бидејќи CO_2 се раствора во вода. Супстрат за активноста на Rubisco секогаш е молекулот на CO_2 кој е во рамнотежа со HCO_3^- преку ензимот карбонска анхидраза. Исто така, Rubisco врши и оксидација на Ru-1,5-BP со што започнува процесот на фотореспирација.

7.2.2 Редукција на јаглородот и синтеза на хексози

Во натамошниот тек на Калвиновиот циклус, 3-PGA се фосфорилира со помош на АТР и под дејство на ензимот **3-фосфоглицератна киназа** се создава **1,3-бифосфоглицеринска киселина (1,3-PGA)** или **1,3-бифосфоглицерат**. Потоа 1,3-PGA се редуцира со помош на ензимот **NADP-глицералдехид-3-фосфатна дехидрогеназа** (триоза-фосфатна дехидрогеназа), чиј коензим е NADPH и притоа се ослободува еден фосфат. Како производ на реакцијата се добива **глицералдехид-3-фосфат (GAP)**, кој под дејство на **триозафосфатната изомераза** делумно се трансформира во **дихидрокси-ацетон-3-фосфат (DHAP)** (Сл. 7.2).

Овие реакции го сочинуваат клучниот дел од циклусот, бидејќи CO_2 кој претходно е врзан во органско соединение се редуцира со помош на енергијата (АТР и NADPH) обезбедена во светлата фаза од фотосинтезата. Непосредни производи при редукција на јаглородот се триозите GAP и DHAP, кои се први два шеќери што се појавуваат во циклусот.

Под влијание на ензимот **алдолаза** доаѓа до кондензација на двете триози и се добива **фруктоза-1,6-бифосфат (F-1,6-BP)**. Дел од циклусот од 3-PGA до F-1,6-BP е идентичен со гликолитичкото разложување на F-1,6-BP на две триози, но во спротивна насока. Меѓутоа, и покрај тоа што се работи за исти супстрати и ензимски реакции, овој процес во хлоропластите сосема е одвоен од процесот на гликолиза во цитоплазмата. Хлоропластите содржат посебни групи ензими што ги извршуваат овие реакции. Всушност, за хлоропластите е карактеристично присуството на **триоза-фосфатната дехидрогеназа** која секогаш е поврзана за NADP, а не за NAD, како што е случај со истиот ензим во цитоплазмата (Сл. 7.2).



Сл. 7.2 Шематски приказ на редукцискиот пентозен циклус (Калвинов циклус), (Buchanan и сор., 2002).

7.2.3 Регенерација на акцепторот на CO₂

Фруктоза-1,6-бифосфат под влијание на ензимот **фруктоза-1,6-бифосфатната фосфатаза** со хидролиза губи една фосфатна група, при што се добива **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)** и **неоргански фосфат (Pi)**. Потоа на **F-6-P** дејствува ензимот **транскетолаза**, чиј коензим е **тиамин-пирофосфат (TPP)**. Ензимот транскетолаза од кето-шеќерите одвојува двокарбонски фрагмент што се врзува за TPP и се вика **активен гликоалдехид**, кој потоа се пренесува на GAP. Остатокот од фруктозата дава шеќер со 4 јаглеродни атоми **еритроза-4-фосфат (E-4-P)**. Со пренесување на двокарбонскиот фрагмент на GAP се добива шеќер со 5 јаглеродни атоми **ксилулоза-5-фосфат (Xu-5-P)**. На ваков начин од два шеќера со 6 и 3 јаглеродни атоми со рекомбинација се добиваат други два шеќера со 4 и 5 јаглеродни атоми (Сл. 7.2).

Со помош на ензимот **алдолаза** шеќерот **E-4-P** се кондензира со еден молекул од триозата **DHAP** и се добива шеќер со 7 јаглеродни атоми **седохептулоза-1,7-бифосфат (S-1,7-BP)**. Под дејство на ензимот **фосфатаза** од **S-1,7-BP** со хиролиза се одвојува една фосфатна група и се добива **седохептулоза-7-фосфат (S-7-P)** и неоргански Pi. Исто така, овој кето шеќер под дејство на ензимот **транскетолаза** се разложува на двокарбонски фрагмент (**активен гликоалдехид**) и на шеќер со 5 јаглеродни атоми **ксилулоза-5-фосфат (Xu-5-P)**. Новиот двокарбонски фрагмент добиен при разложување на S-7-P се пренесува на уште еден молекул на **GAP** и се добива **рибоза-5-фосфат (R-5-P)**. Според тоа, двата шеќера со 7 и 3 јаглеродни атоми со рекомбинација даваат два шеќера со 5 јаглеродни атоми (Сл. 7.2).

Потоа, под дејство на ензимот **пентоза-5-фосфатна епимераза**, **Xu-5-P** преминува во **рибулоза-5-фосфат (Ru-5-P)**. Исто така, со помош на **пентоза-5-фосфатна изомераза** од **R-5-P** се добива **Ru-5-P** (Сл. 7.2). Сите реакции од **F-6-P** до **Ru-5-P** се базираат на разложување на едни шеќери, но и на синтеза на други, при што нивното енергетското ниво не се менува, а само се губат две фосфатни групи. Со оваа рекомбинација на шеќерите се добива пентозата **Ru-5-P**, која прима уште една фосфатна група од АТР во присуство на ензимот **рибулоза-5-фосфатна киназа**. Притоа се создава **рибулоза-1,5-бисфосфат (Ru-1,5-BP)**, односно се регенерира акцепторот за CO₂ (Сл. 7.2).

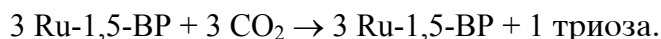
7.2.4 Стехиометрија на редукцискиот пентозен циклус

Од шемата за Калвиновиот циклус јасно се гледа дека при секое повторување на циклусот еден молекул на CO₂ се вградува во органските соединенија и за тоа се потребни **2 NADPH** и **3 АТР**. Овие соединенија ја остваруваат врската помеѓу светлата фаза од фотосинтезата (во која настанува конверзија на светлосната енергија) со темната фаза од фотосинтеата (во која оваа енергија се користи за синтеза на органските соединенија). За да се изгради еден молекул на хексоза потребно е циклусот да се повтори 6 пати и да се потрошат **12 NADPH** и **18 АТР**.

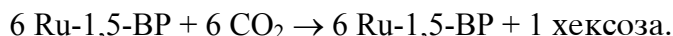


Се смета дека фотосинтезата е многу економичен процес. Така на пр., 12 АТР и 18 NADPH содржат вкупна енергија од 3126 kJ (750 kcal), а во молекулот на хексозата се врзуваат 2804 kJ (673 kcal). Според тоа, речиси 90% од енергијата на АТР и NADPH е конзервирана во хексозите.

Ако се претпостави дека во циклусот учествуваат најмалку 3 Ru-1,5-BP и 3 CO₂, тогаш вкупниот биланс на циклусот може да се претстави на следниот начин:



Ако овие количества се помножат со 2, тогаш хексозата останува како чист принос при 6 пати повторена карбоксилација:



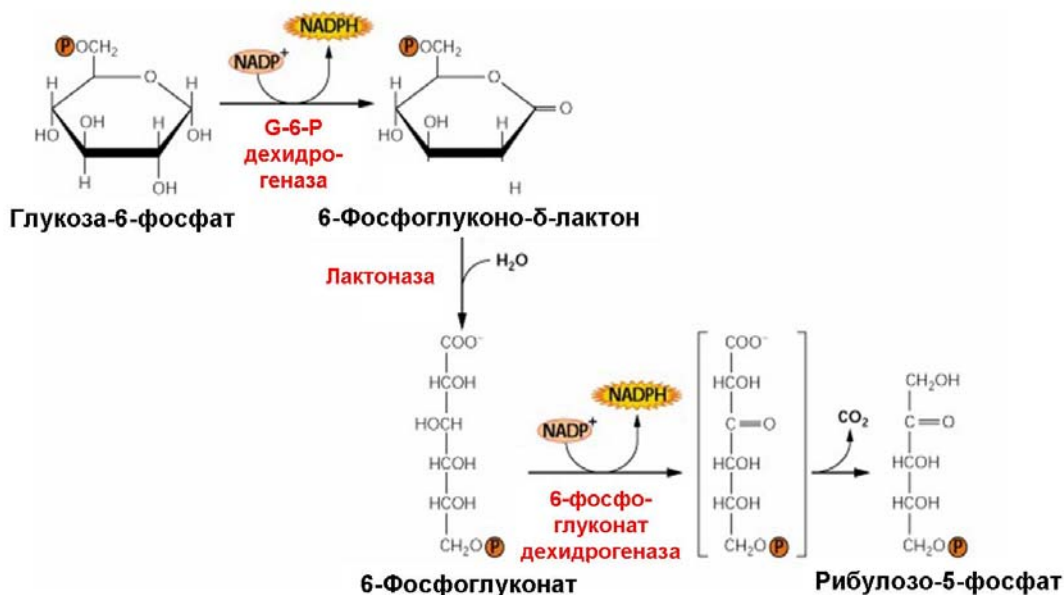
7.2.5 Докази за реакциите во редукцискиот пентозен циклус

Калвин и неговите соработници користејќи различни методи посебно ја проверувале секоја реакција во редукцискиот пентозен циклус. Во прв ред, проверката се состоела во анализа на положбата на радиоактивниот јаглерод во молекулот на интермедиерните шеќери. Потоа, во хлоропластите било проверувано и утврдено присуството на сите ензими што се потребни за одделни реакции, местото на карбоксилација и дејството на ATP и NADPH. Исто така, посебно биле мерени концентрациите на 3-PGA и Ru-1,5-BP. Така на пр., по 20 секунди откако ќе се изгасне светлината, концентрацијата на 3-PGA брзо расте, а потоа опаѓа, додека концентрацијата на Ru-1,5-BP веднаш се намалува. Тоа покажува дека светлината не е директно потребна за синтеза на 3-PGA. Количеството на 3-PGA расте бидејќи таа се синтетизира и на темно, но притоа 3-PGA не се троши, бидејќи за нејзина редукција се потребни ATP и NADPH кои ги нема во темни услови. Концентрацијата на Ru-1,5-BP веднаш опаѓа бидејќи се троши при карбоксилација, но истата не се обновува преку нова синтеза, поради тоа што недостасува ATP. Ако концентрацијата на CO₂ од 1% се намали на 0.003%, тогаш концентрацијата на 3-PGA веднаш опаѓа, додека концентрацијата на Ru-1,5-BP сразмерно расте, бидејќи таа не се троши за карбоксилација.

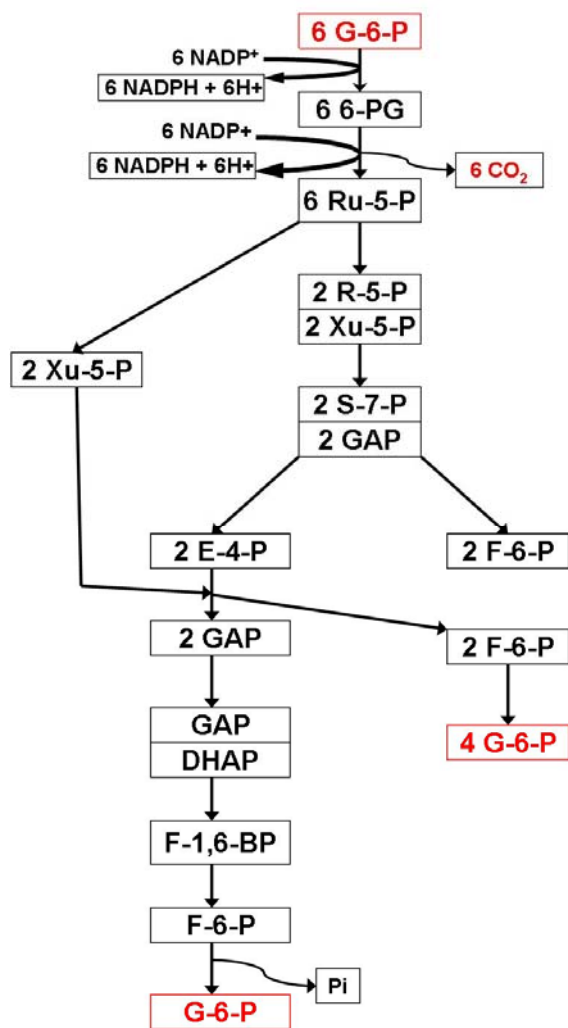
7.3 Оксидациски пентозен циклус во хлоропластот

Редукцискиот пентозен циклус претставува главен метаболички пат на CO₂ во темната фаза на фотосинтезата, а се одвива благодарение на конвертирањето на светлосната во хемиска енергија. Имено, сè додека трае синтезата на ATP и NADPH во мембранскиот систем, редукцијата на CO₂ во пентозниот циклус претставува доминантен процес во стромата на хлоропластот. Меѓутоа, кога светлината ќе се изгасне и ќе престане синтезата на ATP и NADPH, во хлоропластот започнуваат повеќе реверзибилни реакции, што се слични на оние од оксидацискиот пентозен циклус во цитоплазмата. Заедничко за двата циклуса е тоа што имаат повеќе заеднички компоненти, а реакциите се реверзибилни и се одвиваат под дејство на исти ензими во двете насоки. Сепак, главната разлика се состои во тоа што редукцискиот пентозен циклус содржи два пати фосфорилирани шеќери: **фруктоза-1,6-бифосфат**, **седохептулоза-1,7-бифосфат** и **рибулоза-1,5-бифосфат**, кои во оксидацискиот пентозен циклус ги нема. Од друга страна, во оксидацискиот пентозен циклус се присутни **глукоза-6-фосфат** и **6-фосфоглукокат**.

Оксидацискиот циклус започнува кога **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)** ќе излезе од редукцискиот пат. Во овај случај ензимот **глукоза-6-фосфатната изомераза** го катализира преведувањето на фруктозата во **глукоза-6-фосфат (G-6-P)**. Потоа, G-6-P се оксидира со помош на **глукоза-6-фосфатна дехидрогеназа** во **6-фосфоглукокат**, преку редукција на NADP. Следната реакција е оксидациска декарбоксилација на 6-фосфоглукокатот при што се добива **рибулоза-5-фосфат (Ru-5-P)**, CO₂ и уште еден **редуциран NADP** (Сл. 7.3).



Сл. 7.3 Почетни реакции на оксидациониот пентозен циклус (Buchanan и сор., 2002).



Сл. 7.4 Шематски приказ на оксидациониот пентозен циклус во хлоропластите. Глицералдехид-3-фосфат (GAP); дихидрокси-ацетон-3-фосфат (DHAP); глукоза-6-фосфат (G-6-P); 6-фосфоглуконат (6-PG); фруктоза-6-фосфат (F-6-P); фруктоза-1,6-бифосфат (F-1,6-P); еритроза-4-фосфат (E-4-P); ксилулоза-5-фосфат (Xu-5-P); рибоза-5-фосфат (R-5-P); седохептулоза-7-фосфат (S-7-P); рибулоза-5-фосфат (Ru-5-P).

Ru-5-P се вклучува во реакциите на редукцискиот циклус, само во спротивна насока. Од неа се добиваат две други пентози, **ксилоза-5-фосфат (Xu-5-P)** под дејство на **пентоза-5-фосфатната епимераза** и **рибоза-5-фосфат (R-5-P)** под дејство на ензимот **пентоза-5-фосфатната изомераза** (Сл. 7.4). Со рекомбинација на овие пентози се добиваат и други шеќери. Така на пр., под дејство на **транскетолаза**, Xu-5-P се разложува на фрагмент со 2 јаглородни атома (**активен гликоалдехид**) и **3-фосфоглицералдехид (GAP)**, а потоа фрагментот од 2 јаглородни атома се кондензира со **R-5-P** и дава **седухептулоза-7-фосфат (S-7-P)** (Сл. 7.4).

Потоа под дејство на ензимот **алдолаза**, S-7-P се разложува на **еритроза-4-фосфат (E-4-P)** и **дихидроксиацетонфосфат (DHAP)**. Еритроза-4-фосфатот (E-4-P) се кондензира со фрагментот од 2 јаглородни атома и се добива **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)**, додека триозата се кондензира со GAP и се добива **F-6-P**. Со рекомбинација на пентозите се добиваат **F-6-P** и **G-6-P** (Сл. 7.4).

Оксидацискиот пентозен циклус во хлоропластот обезбедува одредено количество на NADPH, кој е потребен за реакциите кои продолжуваат да се одвиваат и на темно. Исто така, овој процес овозможува одржување на одредено константно количество на пентози во хлоропластот. Имено, тие се потребни за да се изгради Ru-1,5-BP, веднаш откако хлоропластот повторно ќе се осветли. Ако сите пентози се потрошат за одвивање на други процеси на темно, тогаш редукцискиот циклус нема да може повторно да се активира во присуство на светлина бидејќи ќе нема акцептор за CO₂.

7.4 Регулација на редукцискиот пентозен циклус

Во стромата на хлоропластот се одвиваат многу сложени синтетски процеси, кои помеѓу себе добро се координирани. Активноста и интензитетот на сите овие процеси зависи од активноста на ензимот **Rubisco**. Во стромата на хлоропластот истовремено постојат два ензимски система:

- првиот учествува во синтеза на јаглехидратите на светло,
- вториот учествува во разградувањето на јаглехидратите на темно.

Главен фактор во регулирањето на овие процеси е светлината. Тоа значи, дека светлината не е само извор на енергија, туку претставува и сигнал кој ја регулира активноста на одредени ензими. Така на пр., под индиректна контрола на светлината се наоѓа и самиот ензим Rubisco (Portis, 1992), а директно светлината контролира барем 5 клучни ензими. Ензимите што учествуваат во биосинтетските патишта се активираат на светло, а оние кои учествуваат во патиштата на деградација активни се на темно.

Постојат најмалку четири начини на кои светлината ги регулира процесите во стромата на хлоропластите:

- Светлината има влијание врз синтезата на ензимот Rubisco.
- Светлината има влијание врз промените во составот на стромата. При транспортот на електроните низ мембраната на тилакоидите, протоните се пренесуваат од стромата во луменот, а двовалентните јони како Mg²⁺ навлегуваат во стромата и на тој начин во стромата во присуство на светлина се зголемува рН од 7.0 на 8.0, а концентрацијата на Mg²⁺ јони се зголемува за 2-3 пати (од 1-3 mM до 3-6 mM).
- Светлината ја регулира синтезата на различни активатори и инхибитори, како и алостерични ефектори, кои ја модифицираат активноста на ензимите, а посебно активноста на ензимот Rubisco.

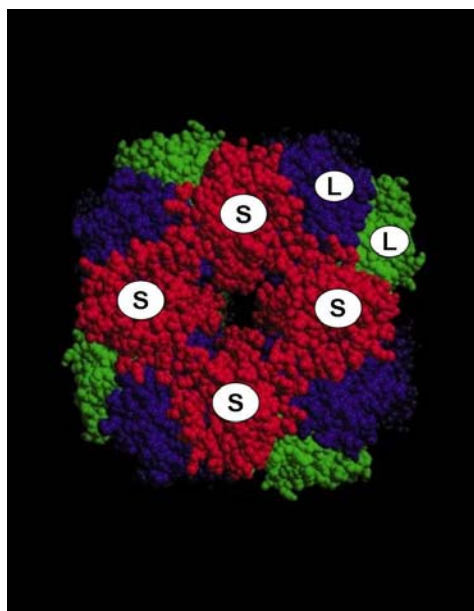
- Кај аеробните фотосинтетски организми, каталитичката функција на повеќе ензими ја регулира **фередоксин-тиоредоксин системот**. Тој ги активира ензимите преку редукција на нивните тиолни (S-S) групи.

Сепак, повеќето процеси во хлоропластот се регулирани преку интеракција на сите споменати механизми, а тоа овозможува растителните организми адекватно да реагираат на променливите природни услови.

7.4.1 Активност на ензимот Rubisco

Ензимот Rubisco како прв и најважен ензим во редукцискиот циклус преку својата активност ја одредува брзината на целиот фотосинтетски процес. Врз неговата активност влијаат различни фактори, под чија контрола се наоѓаат следниве процеси:

- активирање на ензимот Rubisco преку директно врзување за CO_2 и Mg^{2+} (**карбамилација**);
- активирање со помош на ензимот **Rubisco-активаза**;
- инхибиција со помош на **карбоксиарабинитол-1-фосфат** и други инхибитори.



Сл. 7.5 Модел на структурата на Rubisco (Buchanan и сор., 2002).

Ензимот Rubisco е изолиран од листовите, како главна компонента на протеинската фракција која претставува 50% од сите протеини во листот. Rubisco има молекулска маса од 560 kD и се состои од 8 големи и 8 мали субединици.

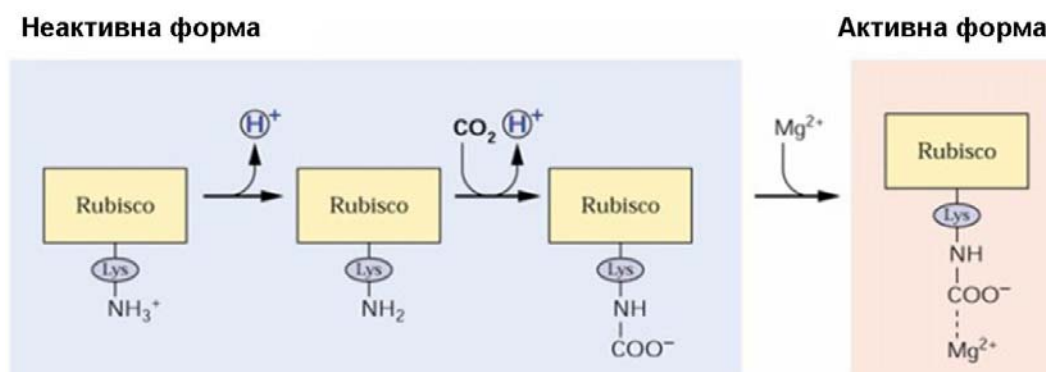
Редоследот на аминокислелините во малите субединици е кодиран со нуклеарните гени *rbsS* (S = small, мал), (Сл. 7.5). Светлината ја зголемува експресијата на *rbsS* гените и во тоа се активни црвената и сината светлина преку фоторецепторите на фитохромот и криптохромот. Меѓутоа, гените *rbsL* (L = large, големи) што ги кодираат големите субединици се наоѓаат по еден во геномот на хлоропластот (Сл. 7.5). Полипептидите од големите субединици се создаваат на рибозомите од хлоропластите и веднаш по синтезата се врзуваат за еден протеин од 60 kD. Тој протеин, како и неговиот кофактор од 10 kD се **шаперонини** кои ја обезбедуваат функционалната форма на ензимот Rubisco (Сл. 7.5). Шаперонините имаат важна улога во поврзувањето на субединиците и нивната правилна поставеност во **S₈L₈ холоензим** и покрај тоа што самите не влегуваат во неговиот состав.

Активниот центар на ензимот Rubisco се наоѓа помеѓу двете големи субединици. Всушност, додека ензимот е во неактивна состојба, активниот центар е достапен за различни активатори или инхибитори на самиот ензим кои ја регулираат неговата активност. Во активниот центар може да се вршат две реакции на ист супстрат:

- карбоксилација на Ru-1,5-BP, која води кон фотосинтеза;
- оксидација на Ru-1,5-BP, која води кон фотореспирација.

Ензимот Rubisco интензивно се проучува не само поради тоа што е најважен ензим во фотосинтезата, туку и поради тоа што тој претставува и модел за проучувањата на синтезата на комплексните протеини во два клеточни компартмана, како и при проучувањата за организацијата на субединиците во единствен ензим и дејството на различни активатори и инхибитори.

Rubisco во својот комплетен состав од 8 мали и 8 големи субединици е неактивен. Ензимот стекнува способност за каталитичка функција само во присуство на CO_2 и Mg^{2+} јони. Но, овие регулаторни молекули не се оние истите што учествуваат во карбоксилација на Ru-1,5-BP. Во овој случај, молекулот на CO_2 се врзува за еден остаток од лизинот и гради карбамат (карбамилација). Потоа, за карбаматот се врзува Mg^{2+} , со што ензимот конечно се активира. Присуството на Mg^{2+} ја обезбедува правилната положба на супстратот кој е неопходен за карбоксилација (Сл. 7.6).

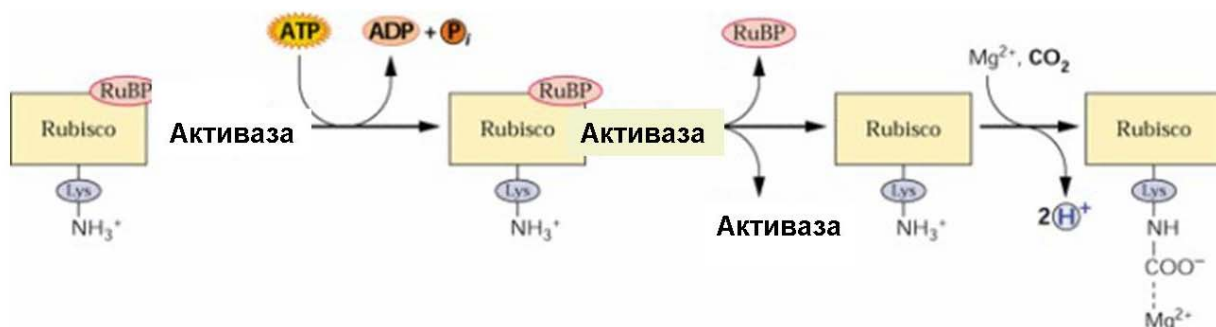


Сл. 7.6 Активација на Rubisco по пат на карбамилација. На светлина во стромата се зголемува концентрацијата на Mg^{2+} и pH на средината, што овозможува одземање на протоните од едниот остаток на лизин и врзување на CO_2 и Mg^{2+} (Buchanan и сор., 2002).

Комплексот $\text{Rubisco-CO}_2\text{-Mg}^{2+}$ е единствена форма во која ензимот може да ја врши функцијата на карбоксилација на Ru-1,5-BP. Формирањето на комплексот е стимулирано при поголема концентрација на Mg^{2+} во стромата и при зголемена pH на 8.0 со што се одзема протон од активниот центар, а истото може да биде спречено при pH што ја има стромата на темно. Всушност, промените во стромата при линеарниот транспорт на електрони го забрзуваат формирањето на активниот Rubisco ензим.

Исто така, кај растенијата е откриен еден растворлив протеин познат како **Rubisco-активаза**, кој учествува во активирање на ензимот Rubisco (Salvucci, 1989). За негова идентификација помогнала анализата кај еден мутант од растението *Arabidopsis*, кај кој било оневозможено активирањето на ензимот Rubisco. Всушност, активазата била идентификувана при споредба на протеините од нормалните растенија со протеините од мутантот, при што било утврдено дека во листовите на мутантот како резултат на генетски лезии не се синтетизира активазата. Активноста на **Rubisco-активазата** е под контрола на светлината и за нејзина функција е потребен АТР, бидејќи функционалниот ензим најверојатно мора да

биде **фосфорилиран** (Сл. 7.7). Според тоа, Rubisco-активазата овозможува максимална ефикасност на Rubisco-ензимот, а истовремено го спречува дејството и на повеќе различни инхибитори.



Сл. 7.7 Шематски приказ на дејството на ензимот Rubisco-активаза, која по фосфорилацијата го врзува Rubisco и го отстранува Ru-1,5-BP. Ако Ru-1,5-BP прерано се врзе за Rubisco, тогаш доаѓа до спречување на карбамилацијата и активноста на Rubisco (Buchanan и сор., 2002).

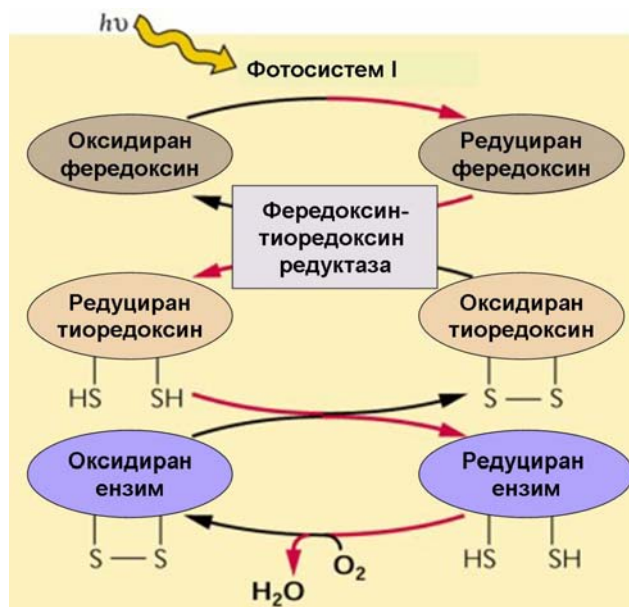
Во *in vitro* услови, брзината на реакцијата на ензимот Rubisco трае само неколку минути, а потоа рапидно опаѓа. Денес, точно се знае дека опаѓањето на брзината на реакцијата на овој ензим се должи на присуството на некои **инхибиторни супстанции**, меѓу кои главна улога имаат некои **фосфорилирани шеќери**. Во средината во која е активен Rubisco се јавуваат некои шеќери кои се врзуваат за ензимот пред неговото активирање и со тоа го инхибираат неговото дејство. Меѓу овие шеќери познати се **Xu-1,5-BP** и **Ru-1,5-BP**. Ru-1,5-BP го инхибира ензимот ако се врзе за него пред карбамилацијата, а со тоа се спречува формирањето на комплексот со CO₂-Mg²⁺. Во овој случај интервенира **Rubisco активаза**, која ја одвојува **Ru-1,5-BP** и овозможува **карбамилацијата**.

Кај некои растенија е откриен еден природен инхибитор односно фосфорилиран шеќер, кој е идентификуван како **2-карбоксиарабинитол-1-фосфат (CA-1-P)**, (Servaites, 1990). Инхибиторот CA-1-P се врзува за комплексот **Rubisco-CO₂-Mg²⁺** и го завзема местото на првото интермедиерно соединение после карбоксилацијата на **Ru-1,5-BP**, при што ги блокира сите натамошни реакции. Кај некои растителни видови, CA-1-P го има во големи количества, додека кај други воопшто не е пронајден. Патиштата на синтеза на овој инхибитор не се познати, но се смета дека истиот се разградува постепено со зголемување на интензитетот на осветлувањето. Овој инхибитор најверојатно има значајна улога при регулирање на фотосинтезата особено во текот на денот кога нејзиниот интензитет варира.

7.4.2 Ензими контролирани од фередоксин-тиоредоксин системот

Светлината ја стимулира активноста на следниве 4 клучни ензими од редукцискиот циклус: **глицералдехид-3-фосфатната дехидрогеназа, фруктоза-1,6-бифосфатаза, седохептулоза-1,7-бифосфатаза и рибулоза-5-фосфатна киназа**. Сите овие ензими се активни при зголемена концентрација на Mg²⁺ во стромата и имаат оптимално дејство при **pH 8.0**. Тоа значи дека фотосинтетскиот транспорт на електрони преку промените во стромата има влијание и на активноста на овие ензими. Исто така, овие ензими се под контрола на **фередоксин-тиоредоксин системот** (Buchanan, 1991). Тиоредоксините се најдобро проучени како членови од една група протеини, која има важна улога во метаболизмот на растителните, бактериските и анималните клетки. Тиоредоксините имаат молекулска маса од 12

kD. Во нивниот молекул два соседни остатоци од **цистеинот** градат **дисулфидна група (S-S)**, која во редуцирана состојба преминува во **(SH-SH)**. Во состав на на овој систем влегува и **фередоксинот (Fd)**, кој прима електрони при нецикличниот фотосинтетски транспорт. Тој редуцира еден феросулфурен протеин, **фередоксин-тиоредоксин-редуктаза (FTR)**, кој ги предава електроните и протоните на **тиоредоксинот** (Сл. 7.8).



Сл. 7.8 Шематски приказ на системот фередоксин-тиоредоксин, кој ја контролира активноста на неколку ензими по пат на редукција на нивните тио-групи. Фередоксинот се редуцира на светлина примајќи електрони од PSI. Тиоредоксинот може да го редуцира било кој ензим, кој притоа се активира или инактивира.

Постојат 3 тиоредоксини означени како **f**, **m** и **h**. Тиоредоксинот **f** ги редуцира дисулфидните групи кои се наоѓаат во ензимите од редукцискиот циклус, а сите овие ензими се **активни** само во **редуцирана форма**, која се добива во присуство на **светлина**. На темно, клучните ензими во редукцискиот циклус се **оксидираат** и **инактивираат**. Овие ензими во редукцискиот циклус се наоѓаат на 4 клучни места, на кои се разгрануваат патиштата од два процеса и тие реакциите ги насочуваат во правец за одржување на редукцискиот циклус. Тиоредоксинот **m** ја редуцира малатната дехидрогеназа, а тиоредоксинот **h** се наоѓа само во хетеротрофните клетки.

Ензимите кои ги регулираат оксидациските реакции се под негативна контрола на светлината. Оксидацискиот пентозен циклус е одреден со почетната реакција односно оксидација на глюкоза-6-фосфат. Активноста на ензимот глюкоза-6-фосфатна дехидрогеназа е многу ниска при зголемено присуство на Mg^{2+} и при алкална pH. Меѓутоа, ензимот е и под контрола на односот NADPH/NADP. NADPH компетитивно го инхибира врзувањето на NADP за супстратот. Бидејќи на светло се синтезира NADPH, тогаш оксидацијата на супстратот е спречена. Сепак, истовремено глюкоза-6-фосфатната дехидрогеназа се редуцира со помош на фередоксин-тиоредоксин системот. Овој ензим во редуцирана состојба е неактивен, но може да се активира на темно, кога повторно ќе се оксидира.

7.5 Фотореспирација

Фотореспирацијата е процес што ја следи фотосинтезата кај голем број растенија. Овој процес се одвива во присуство на светлина, но притоа се ослободува CO_2 , а се троши O_2 , исто како и при процесот дишење. Поради тоа, многу е тешко да се мери интензитетот на фотореспирација, бидејќи истата е маскирана со фотосинтезата. Фотореспирацијата од биохемиски аспект нема ништо заедничко со дишењето, но е поврзана со фотосинтезата. Имено, фотореспирацијата се базира на **метаболизмот од гликолната киселина (гликолат)** и поради тоа се нарекува **C-2 фотореспираторен циклус** (Leegood, 1993).

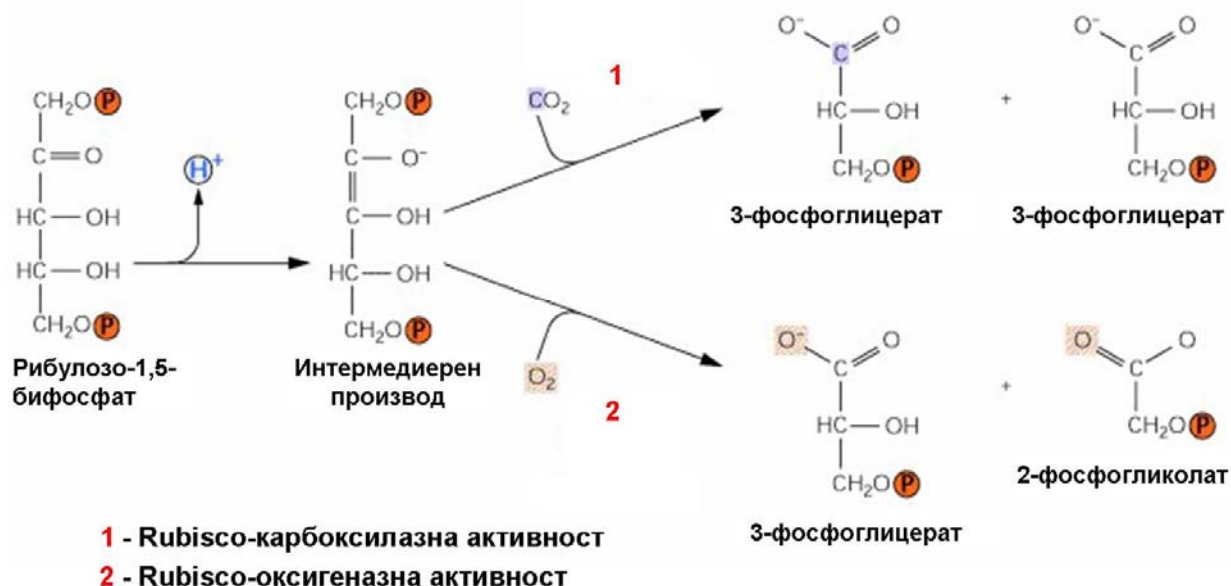
Во процесот на фотореспирација сукцесивно учествуваат три клеточни органели: **хлоропластите**, **пероксизомите** и **митохондриите**, а се подразбира и учеството на цитоплазмата која ги опкружува. Овој биохемиски процес се состои од повеќе сегменти:

- оксидација на Ru-1,5-BP и формирање на фосфогликолат во хлоропластот;
- оксидација на гликолатот и синтеза на глицин преку трансминација во пероксизомот;
- конверзија на глицинот во серин во митохондриите;
- регенерација на 3-PGA во соработка на сите три органели.

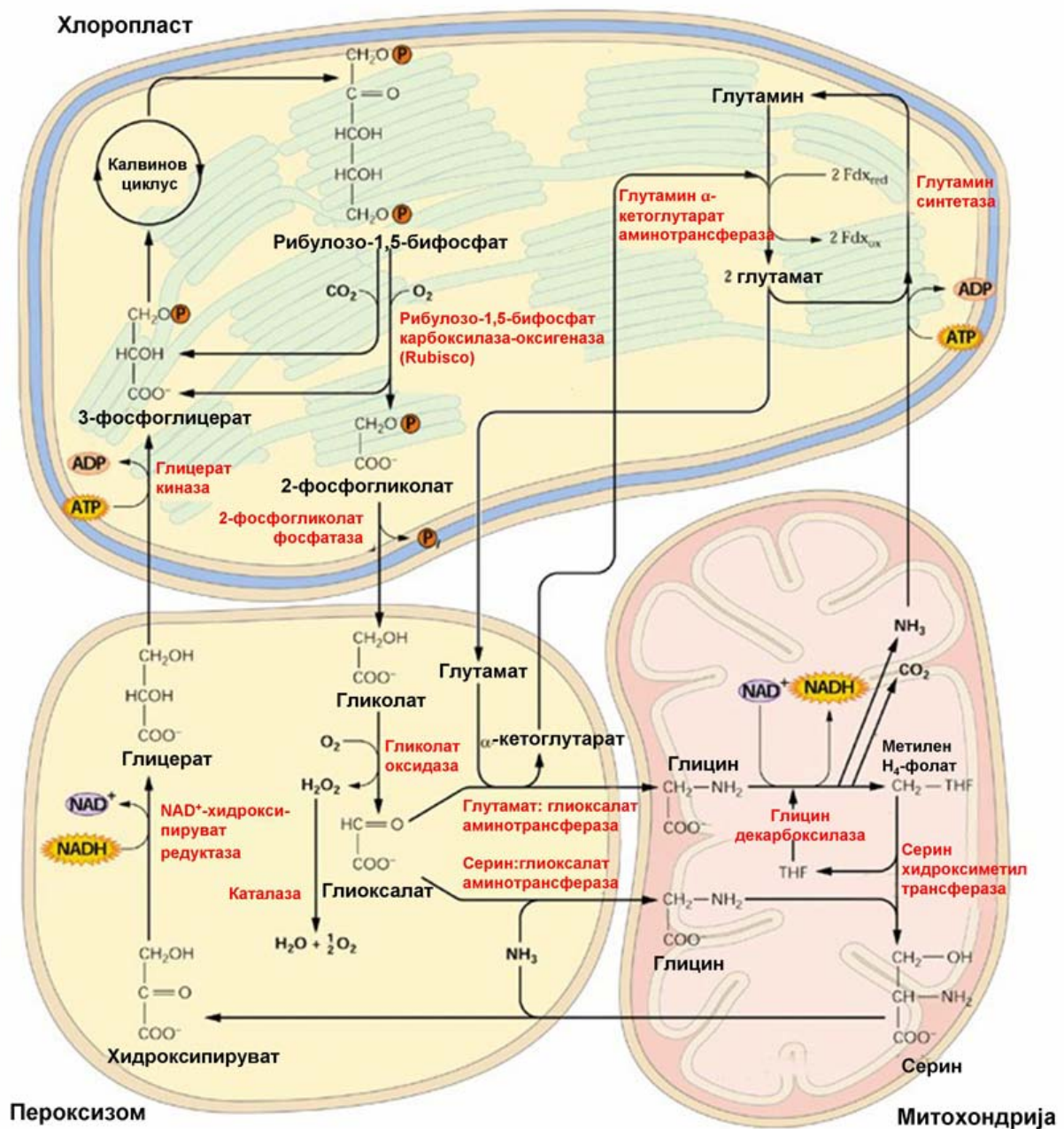
Првите три степени се иреверзибилни, додека последниот може да се развива во две насоки и тоа кон синтеза на 3-PGA или кон други метаболички процеси во кои се користи аминокиселината серин.

7.5.1 Метаболизам на гликолатот

Ензимот Rubisco катализира две реакции користејќи Ru-1,5-BP како супстрат. Тие реакции се **карбоксилација** која го означува почетокот на редуцискиот пентозен циклус и **оксидација** која води кон фотореспираторниот циклус (Сл. 7.9).



Сл. 7.9 Rubisco катализира две реакции: карбоксилација и оксидација на Ru-1,5-BP. При карбоксилација се добиваат две молекули на 3-PGA, кои влегуваат во редуцискиот пентозен циклус. При оксидација се добива еден молекул на 3-PGA и еден молекул на 2-фосфогликолат кој влегува во фотореспираторниот циклус.



Сл. 7.10 Шематски приказ на фотореспирацијата-оксидациски фотосинтетски C-2 циклус помеѓу хлоропластите, пероксизомите и митохондриите. Циклусот почнува со оксидација на Ru-1,5 BP во хлоропластите, а продолжува со преминување на гликолатот во пероксизомите. При оксидација на гликолатот се троши O₂, глиоксалатот прима аминокиселина од глутаматот и серинот, а потоа во форма на глицин преминува во митохондриите. При кондензација на две молекули глицин се добива серин, NH₃, NADH и CO₂. Поради тоа, процесот наликува на респирацијата. Со овие процеси е поврзана регенерацијата на 3-PGA од серинот, кој се враќа во пероксизомите, како и фотореспираторниот циклус на азотот во хлоропластите (Buchanan и соp., 2002).

Двете реакции се катализирани на исто активно место на ензимот Rubisco и поради тоа CO_2 и O_2 компетитираат за ова место. Во водениот раствор на листот кој е во рамнотежа со составот на воздухот во интерцелуларите, количникот CO_2/O_2 на 25°C е 0.0416. Во тој случај односот на процесите е 3:1 во корист на карбоксилацијата.

При оксидација на Ru-1,5-BP се добива еден молекул на **2-фосфогликолат** и еден молекул на **3-фосфоглицерат (3-PGA)**, наместо две молекули на 3-PGA што се добиваат при карбоксилација. Молекулите на 3-PGA се вклучуваат во редуцискиот пентозен циклус, но при оксидација ги има за половина помалку. Во хлоропластите речиси секогаш се јавува одредено количество на O_2 што се добива при разложување на водата и затоа оксидацијата на одредено количество Ru-1,5-BP претставува неизбежен процес. Добиениот **2-фосфогликолат** при оксидација со помош на ензимот **фосфогликолатна фосфатаза** се преведува во **гликолат**, кој излегува од хлоропластот со помош на посебен протеински пренесувач и навлегува во пероксизомите. Истовремено, транслокаторот на гликолатот внесува во хлоропластот молекул на **глицеринска киселина (глицерат)** од цитоплазмата.

Покрај глиоксизомите и пероксизомите припаѓаат во групата на микротела, кои се присутни во клетките на листот. Тие се обвиткани со еднослојна мембрана и содржат крупно кристално тело кое се состои од ензимот **каталаза**. Вообичаено пероксизомите се наоѓаат помеѓу хлоропластите и митохондриите, а со тоа се објаснува и соработката на овие три органели во метаболизмот на гликолатот. **Гликолатот** кој преминал од хлоропластот во пероксизомите се оксидира со помош **гликолатна оксидаза** во **глиоксалат**. Во таа реакција се троши O_2 и се добива **водороден пероксид (H_2O_2)**. Ензимот каталаза го разложува H_2O_2 на H_2O и $1/2 \text{O}_2$.

Од двата **глиоксалати**, едниот прима amino група од **глутаминската киселина (глутамат)** со помош на **глиоксалат-глутаматна аминотрансфераза**, а другиот од серинот под дејство на **глиоксалат-серинска аминотрансфераза**. Притоа, во двата случаи се добива аминокиселината **глицин**, која преминува во митохондриите (Сл. 7.10). Во митохондриите, глицинот со оксидатиска декарбоксилација се разложува на CO_2 и **метиламин**, кој губи NH_3 и потоа како **метиленски C_1 остаток** од еден јаглерод се врзува за **тетрахидрофолат (THF)**, а ензимот кој го врши ова разградување е **глицинска декарбоксилаза** врзана за NAD. THF е пренесувач на метиленскиот фрагмент, кој се врзува со друг молекул на глицин со помош на **серин-хидроксиметил трансфераза**, при што се добива **серин**. Вкупниот биланс на реакцијата е кондензација на две молекули на **глицин** од кои се добива **серин**, CO_2 , NH_3 и NADH.

Декарбоксилацијата на глицинот е главна реакција во која се добива CO_2 и по која целиот процес е сличен на дишењето. NAD кој се редуцира, повторно се оксидира во митохондриите, а со тоа се овозможува синтеза на ATP.

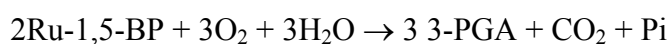
Глицинот и серинот се поврзани преку реверзибилна реакција во која учествува THF. Тие понатаму се вклучуваат во различни метаболички процеси. Од серин се добива **цистеин**, а сите три аминокиселини **глицин**, **серин** и **цистеин** можат да се вградат во протеините. Тоа значи дека фотореспирацијата има значајна улога во синтезата на овие три аминокиселини. Меѓутоа, при фотореспирација, серинот може да се користи и за регенерација на 3-PGA. Но, на тој пат **серинот** од митохондриите преминува во пероксизомите, каде што со **глиоксалатот** дава **глицин** и **хидроксипируват**. Хидроксипируватот со помош на **NADH-дехидрогеназа** се редуцира во **глицерат**, кој се враќа во хлоропластот каде се фосфорилира со помош на ATP и **глицератна киназа**, а потоа навлегува во редуцискиот пентозен циклус. На тој начин дел од фиксираниот и редуцираниот CO_2 се враќа во хлоропластот, а дел неповратно се губи при синтеза на серинот.

При процесот фотореспирација се ослободува и NH_3 во исто количество како и CO_2 . Губењето на органскиот азот за растението би било исто толку штетно колку и губењето на органскиот јаглерод, ако не би постоел пат преку кој азотот повторно ќе се асимилира. Меѓутоа, амониумовиот јон е токсичен за фотосинтезата и поради тоа неговата повторна асимилација е неопходна како еден начин на детоксификација. Ослободениот NH_3 се враќа во хлоропластот и се користи за синтеза на **аминокиселини** со помош на ензимскиот систем **глутамат/глутамин (GS/GOGAT)** кој во хлоропластот ја врши примарната синтеза на аминокиселини. Во овој случај процесот е познат како **фотореспираторен циклус на азотот**. Всушност, количеството на повторно врзаниот амониум е поголемо од она што се добива при примарна синтеза на аминокиселини во листот кај C-3 растенијата.

Фотореспираторниот циклус на азотот покажува зошто за аминација на глиоксалатот во глицин се потребни две различни аминотрансферази (глутаматна и серинска). Ако не учествува глиоксалат-серинската аминотрансфераза нема да биде можна деаминација на серинот во хидроксипируват. Исто така, глиоксалат-глутаматната аминотрансфераза е неопходна за повторно да се произведе α -кетоглутарат, кој прима амино групи во системот глутамат/глутамин (GS/GOGAT). Тоа значи, дека без таа реакција би настанала акумулација на глутаматот и реасимилацијата на амониумот би престанала. Поради токсичноста на амониумот во фотосинтезата, растението би било сериозно оштетено.

7.5.2 Учество на фотореспирацијата во фотосинтетската продукција

Фотореспирацијата може да се претстави со следната равенка:



Од равенката може да се забележи дека два молекула Ru-1,5-BP со вкупно 10 C-атоми се регенерираат во 3 молекули 3-PGA со 9 C-атоми. Од овие 3 молекули 3-PGA, 2 молекула потекнуваат од распаѓањето на почетните пентози. Третиот молекул од 3-PGA настанува од 2 гликолати (односно глицини), од кои потекнува и CO_2 . Според тоа, од 4 јаглеродни атоми кои влегуваат во фотореспираторниот циклус, 3 C-атоми се регенерираат, а 1 C-атом се губи, што значи дека се губат 25% од фотосинтетските производи. И покрај тоа што при фотореспирацијата има загуба на фотосинтетските производи, истата не е можно да се исклучи поради активноста на ензимот Rubisco кај сите фотосинтетски организми. Така на пр., редуцискиот пентозен циклус може да постои сам за себе, а фотореспираторниот циклус е "паразитски" бидејќи зависи од синтезата на Ru-1,5-BP.

7.5.3 Квантитативен однос на редуцискиот и фотореспираторниот циклус

Кај растенијата постои размена на CO_2 и O_2 со надворешната средина преку процесот на фотосинтеза, која е во спротивна насока од онаа при процесите на дишење и фотореспирација. Сепак постои начин да се измерат овие три процеси во многу краток временски период. Тоа може да се постигне кога се менуваат надворешните услови во текот на експериментот и кога се следат т.н. преодни феномени. Во првиот дел од експериментот, во текот на фотосинтезата во присуство на светлина било забележано зголемено количество на CO_2 . Во отсуство на светлина, количеството на CO_2 расте, бидејќи тој се произведува при процесот дишење, а потоа во следниот период на темно, количеството на CO_2 се наоѓа на постојано високо ниво. Во првите секунди по гаснењето на светлината,

количеството на CO_2 покажува голем скок кој потоа опаѓа на ниво кое е одредено со процесот на дишење. Всушност, тој скок во количеството на CO_2 се појавува како резултат на фотореспирацијата, која продолжува уште за краток период по гаснењето на светлината на сметка на претходно формираниот гликолат. Ако во преодниот период се мери количеството на O_2 , тогаш се појавува значително опаѓање на неговата концентрација, што е резултат на потрошувачката на O_2 во процесот на фотореспирација, а потоа концентрацијата на O_2 се стабилизира на ниво кое зависи од процесот на дишење.

Релативниот однос на карбоксилација и оксидација на Ru-1,5-BP го одредува количникот на CO_2/O_2 растворени во стромата. Вредноста на овај количник се менува со промена на температурата. При повисока температура, количеството на растворените гасови опаѓа. Количеството на CO_2 опаѓа многу побрзо отколку количеството на O_2 . Така на пр., при температура од 5°C , количникот $\text{CO}_2/\text{O}_2=0.051$, а на 35°C изнесува $\text{CO}_2/\text{O}_2=0.037$. Тоа значи, дека ензимот Rubisco на 35°C повеќе подлежи на оксидација, отколку при умерени температури. Затоа, растенијата кои можат да ја ограничат фотореспирацијата (C-4 растенијата) покажуваат толерантност кон зголемена температура и под тие услови можат да бидат високо продуктивни.

7.6 Фиксација на CO_2 кај C-4 растенијата

Испитувањата за фиксацијата на CO_2 кај поголем број различни растенија покажале дека редуцискиот пентозен циклус е единствен начин за синтеза на органските соединенија кај сите фотосинтетски организми. Меѓутоа, подоцна било утврдено дека постојат одредени разлики во начинот на примање на CO_2 од воздухот. Hatch и Slack (1966), испитувајќи ја фиксацијата на CO_2 кај шеќерна трска утврдиле дека постои разлика во начинот на примање на CO_2 од воздухот. Тие во своите истражувања користеле $^{14}\text{CO}_2$ и покажале дека после 1 секунда, 93% од ^{14}C се наоѓа во карбоксилната група на три органски киселини и тоа: **оксалоцетна, аспарагинска и јабољкова киселина (оксалацетат, аспартат и малат)**. Радиоактивноста кај 3-PGA се појавила дури по неколку минути.

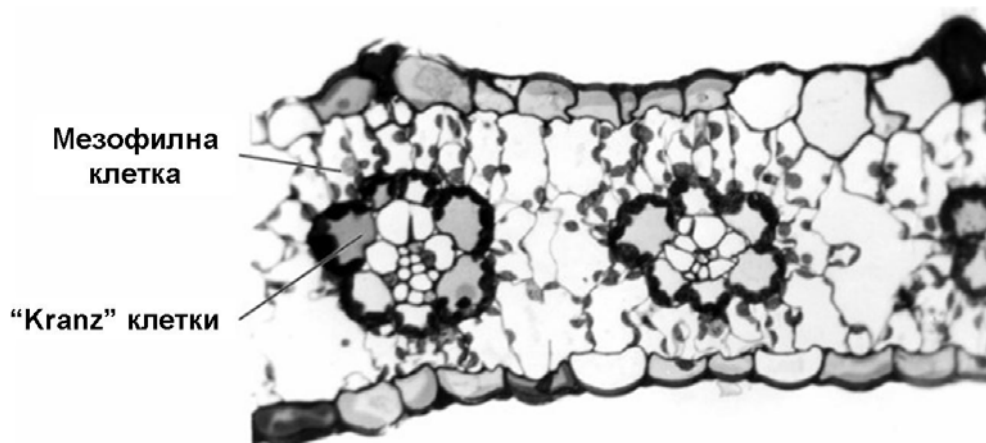
Овој начин на фиксација на CO_2 бил покажан и кај други растителни видови, кај тревите од тропско потекло (шеќерна репка) и други претставници на Poales и Cyperales (пченка, Sorghum, Cyperus), но и кај дикотилните растенија од редовите Asterales, Euphorbiales, Geraniales, Caryophyllales и други. Посебно биле испитувани родовите *Amaranthus*, *Atriplex* и *Chenopodium*. Кај одредени родови и видови може да биде присутен овој начин на фиксација на CO_2 , но кај други видови од истиот род начинот на фиксација на CO_2 може да е ист како кај редуцискиот пентозен циклус.

Поради тоа што кај сите овие видови првиот производ при фиксација на CO_2 не е 3-PGA со 3 јаглеродни атоми, туку други три киселини со 4 јаглеродни атоми, овие растенија се наречени **C-4 растенија**, за разлика од сите други што го добиле името **C-3 растенија**. C-4 растенијата меѓу себе таксономски се прилично оддалечени, но сепак, C-4 видовите водат потекло од тропските краеве и еволуирале под слични еколошки услови (Edwards и Walker, 1983).

7.6.1 Анатомски и цитолошки особини на C-4 растенијата

Кај C-4 растенијата се присутни сите морфолошки карактеристики за таксоните кон кои тие припаѓаат, но по градбата на листот и структурата на хлоропластите се издвојуваат од сите систематски категории како посебна група. Всушност, особините и карактеристиките во нивната структура им овозможуваат C-4 тип на фотосинтеза. Така, кај овие растителни видови најдобро е изразена зависноста помеѓу структурата и функцијата.

Во асимилационото ткиво кај C-4 растенијата се разликуваат два вида на клетки. Еден вид се **клетките на мезофилот** кои се слични на тие кај другите растенија, со изразена поделба на палисадниот и сунѓерастиот паренхим. Меѓу нив често се наоѓаат големи интерцелуларни простори. Вториот вид клетки го претставуваат клетките кои спирално ги обвивкуваат спроводните снопчиња и околу нив градат збиена обвивка или **сара на спроводните снопчиња** (Сл. 7.11). Овие клетки биле забележани на напречен пресек на листовите кај некои растенија и биле наречени **“Kranz” клетки**, што на германски значи “венец”. Подоцна било утврдено дека сите растенија кои имаат “Kranz” клетки припаѓаат на групата на C-4 растенија. “Kranz” клетките се наоѓаат околу сите, па и околу и најмалите снопчиња, така што ниту една мезофилна клетка не е одалечена од нив за повеќе од 3-4 клетки. Кај C-4 растенијата (со исклучок на NADP-малатните), соседните мезофилни клетки се редат уште во еден надворешен венец (круг) околу клетките на сарата, а околу нив се наоѓаат големи интерцелулари.



Сл. 7.11 Анатомија на листот кај C-4 растение.

Голем број C-3 растенијата имаат обвивка од мезофилни клетки околу снопчињата, но овие клетки најчесто немаат или имаат малку хлоропласти. Од друга страна, пак, во “венецот” кај C-4 растенијата се наоѓаат крупни хлоропласти. Клетките на внатрешната обвивка кај C-4 растенијата имаат задебелени сидови проткаени со суберин, а сидовите на мезофилниот слој се тенки. Клетките на “венецот” и мезофилот се поврзани со добро развиени и многубројни плазмодезми.

Хлоропластите во клетките на сарата на спроводните снопчиња имаат посебна внатрешна градба додека во хлоропластите на мезофилните клетки се наоѓа типичен тилакоиден систем. Хлоропластите во клетките на сарата се разликуваат од оние на мезофилните клетки и по ензимите кои ги содржат. Имено, Rubisco и другите ензими од редуцискиот циклус се наоѓаат само во хлоропластите на клетките од сарата, а во мезофилните клетки доминантен е ензимот фосфоенолпируват карбоксилаза (PEP-карбоксилаза).

7.6.2 Метаболизам на CO₂ кај C-4 растенијата

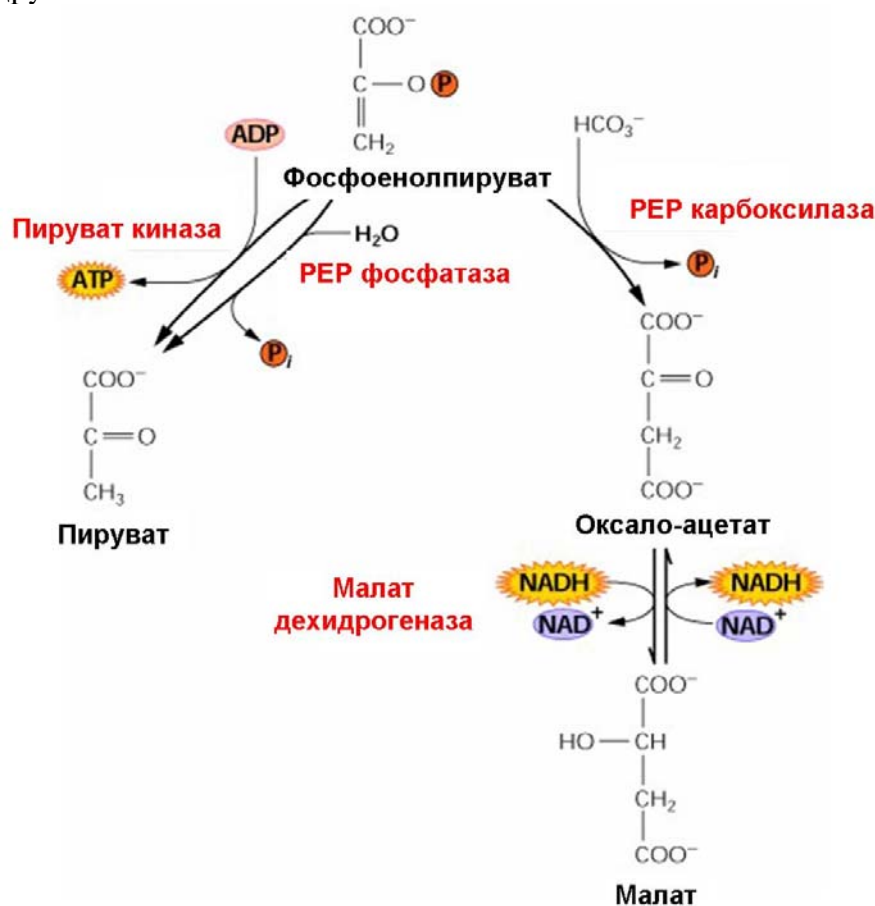
Кај C-4 растенијата постои поделба на функцијата помеѓу мезофилните клетки и клетките на сарата. **Фиксацијата на CO₂** од воздухот и **синтезата на C-4 органски киселини** се врши во мезофилните клетки, а **редукцискиот фотосинтетски циклус** во клетките на сарата.

При асимилација на CO₂ се разликуваат следните фази:

- фиксација на CO₂, карбоксилација на фосфоенолпируватот и синтеза на киселини со 4 јаглеродни атоми во мезофилот;
- транспорт на C-4 киселините во клетките на сарата;
- декарбоксилација на C-4 киселините, фиксација на CO₂ во редукцискиот пентозен циклус во клетките на сарата;
- транспорт на остатоците со 3 јаглеродни атоми во клетките на мезофилот;
- регенерација на акцепторот за CO₂ во клетките на мезофилот.

Процесите во мезофилните клетки кај C-4 растенијата главно се идентични, но, сепак, според **C-4 киселините** што се транспортираат од мезофилот во сарата, како и според ензимите кои ја вршат **декарбоксилацијата** тие се делат во три групи:

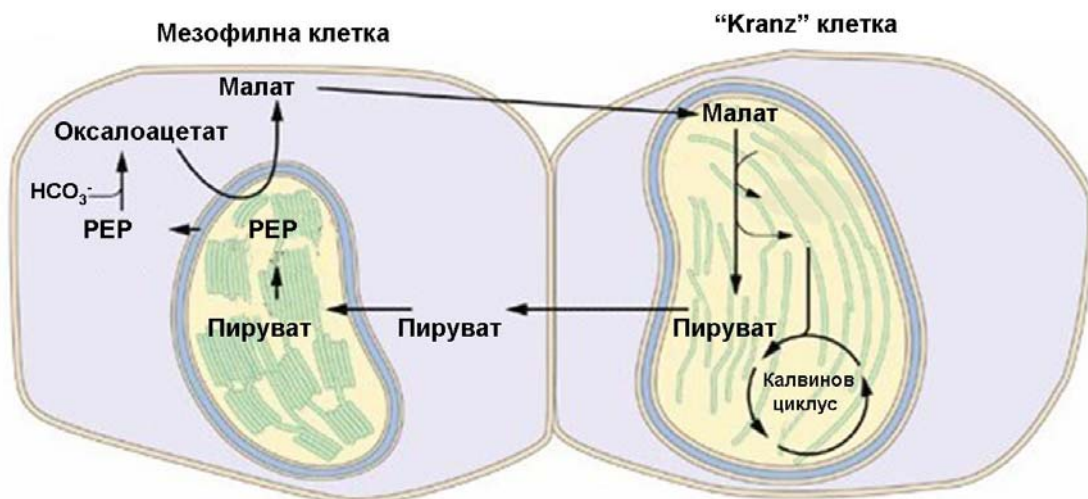
- **NADP-малатен тип** на растенија со **малат** (јаболкова киселин) и **NADP- малатен** (јаболков) **ензим**; тука спаѓаат пченка, шеќерна трска, *Sorghum*, *Cyperus*, *Digitaria sanguinalis* и други.
- **NADP-тип со аспартат** (аспарагинска киселина) и **NAD-малатен ензим**; ги опфаќа *Artiplex spongiosa*, *Portulaca oleracea*, *Amaranthus edulis*, *Panicum miliaceum* и др.
- **PEPCK-аспартатен тип со аспартат и фосфоенолпируватна карбоксилаза (PEPCK)**; тука спаѓаат *Panicum maximum*, *Chloris gayana*, *Sporolobus fimbriatus*, *Spartina* и други.



Сл. 7.12 Шематски приказ на карбоксилација на PEP и создавање на C-4 органски киселини.

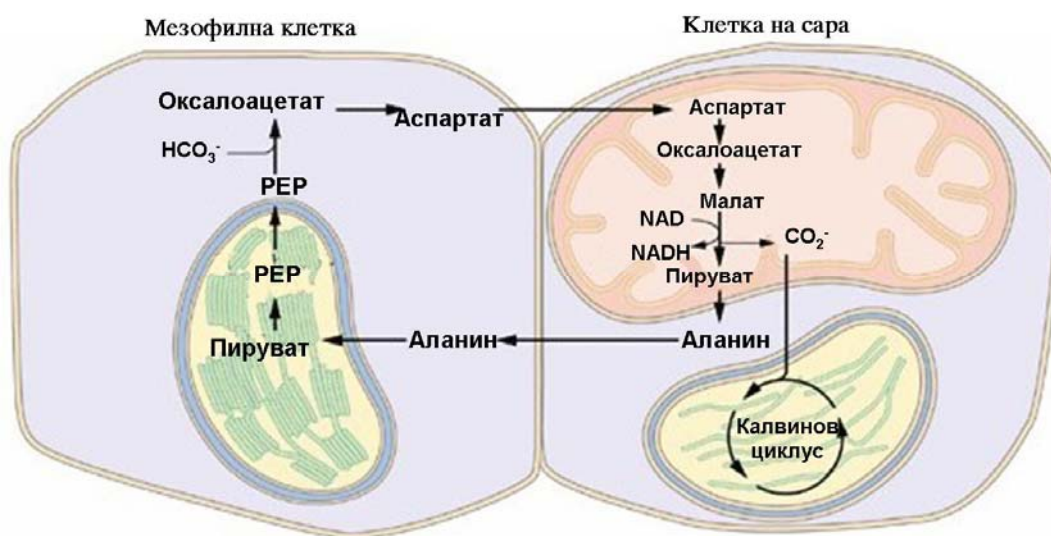
Фиксација на CO_2 се врши во клетките на мезофилот, кои благодарение на интерцелуларите се опкружени со воздух. Апсорбираниот CO_2 под дејство на ензимот **кабоанхидраза** во клеточната цитоплазма се раствора во H_2CO_3 . За карбоксилација се користи HCO_3^- јонот, кој се врзува за супстратот **фосфоенолпируват (PEP)**, со помош на ензимот **PEP-карбоксилаза**. Прв производ на карбоксилацијата е **оксалацетатот**. Тој е токсичен и брзо преминува во две други киселини. Според киселината која е доминантна, C-4 растенијата се означени како **“малатни”** и **“аспартатни”**. Кај малатните растенија ензимот **малатна дехидрогеназа**, чиј коензим е NADPH го редуцира **оксалацетатот** во **малат**. Кај аспартатните растенија, се врши аминација на **оксалацетатот** со помош на ензимот **трансаминаза** со **глутамат** како донор на $-\text{NH}_2$ групата и се добива **аспартат**. Малатот и аспартатот содржат ^{14}C во карбоксилната група на 4-от јаглероден атом (Сл. 7.12). Карбоксилацијата на PEP во малат кај малатните растенија се врши во хлоропластите на мезофилните клетки, а NADPH потекнува од светлата фаза на фотосинтезата. Аминацијата на оксалацетатот кај аспартатните растенија се врши во цитоплазмата на мезофилните клетки. Малатот и аспартатот се транспортираат од мезофилните клетки во клетките на сарата преку плазмодезми.

Растенијата со малат и NADP-малатен ензим цитолошки се разликуваат, бидејќи во клетките на сарата содржат само агранални хлоропласти. Во мембраните на овие хлоропласти, односот на хлорофилот a/b достигнува 10, а во мезофилните клетки е 2.5. **Малатот** влегува во хлоропластот од клетките на сарата каде што под влијание на **малатна декарбоксилаза** се оксидира и губи CO_2 . Во оваа реакција се добива CO_2 , NADPH и **пируват**. CO_2 се користи во редукцискиот циклус за карбоксилација на Ru-1,5-BP. Хлоропластите од клетките на сарата ги содржат сите ензими потребни за одвивање на редукцискиот пентозен циклус. Овие хлоропласти немаат грана и имаат слабо развиен PSII. Поради тоа, во нив се врши само цикличен транспорт на електрони околу PSI и се произведува ATP. NADPH се обезбедува преку оксидациона декарбоксилација на малатот. Според тоа, малатот служи како пренесувач на CO_2 од мезофилните клетки во клетките на сарата. Пируватот, кој останал после декарбоксилацијата се транспортира назад во клетките на мезофилот, каде што се регенерира фосфоенолпируватот (PEP) (Сл. 7.13).



Сл. 7.13 NADP малатен тип кај C-4 растенија. Мезофилната клетка и клетката на сарата разменуваат малат и пируват. Малатот пренесува CO_2 и редукциски еквивалент. Декарбоксилацијата ја врши NADP-малатен ензим во клетката на сарата кај хлоропластите. CO_2 и NADPH се користат во редукцискиот циклус. Пируватот се враќа во мезофилната клетка, каде што се регенерира PEP со учество на ATP и P_i , од кои се создаваат AMP и PP_i . AMP со уште еден молекул ATP дава два молекула ADP, кои во присуство на светлина се фосфорилираат во ATP (Buchanan и сор., 2002).

Кај растенијата со аспартат и NAD-малатен ензим, аспартатот се транспортира во клетките на сарата и навлегува во митохондриите. Потоа, под дејство на ензимот **аспартатна аминотрансфераза**, нејзината amino група се пренесува на **α -кетоглутаратот** и се добиваат **оксалацетат** и **глутамат**. Оксалацетатот со помош на **NADP-малатната дехидрогеназа** се редуцира во малат. Потоа, малатот при оксидациона декарбоксилација под дејство на **NAD-малатна декарбоксилаза** дава **CO₂** и **пируват**. CO₂ преминува во хлоропластот, каде што преку карбоксилација на Ru-1,5-BP навлегува во редукцискиот пентозен циклус. **Пируватот** излегува во цитоплазмата, каде што прима amino група од **глутаматот** и како **аланин** преминува во цитоплазмата на мезофилните клетки. Според тоа, во размената помеѓу двете клетки учествуваат **аспартатот** и **аланинот**. Аспартатот го пренесува CO₂, а аланинот ја враќа -NH₂ групата (Сл. 7.14).

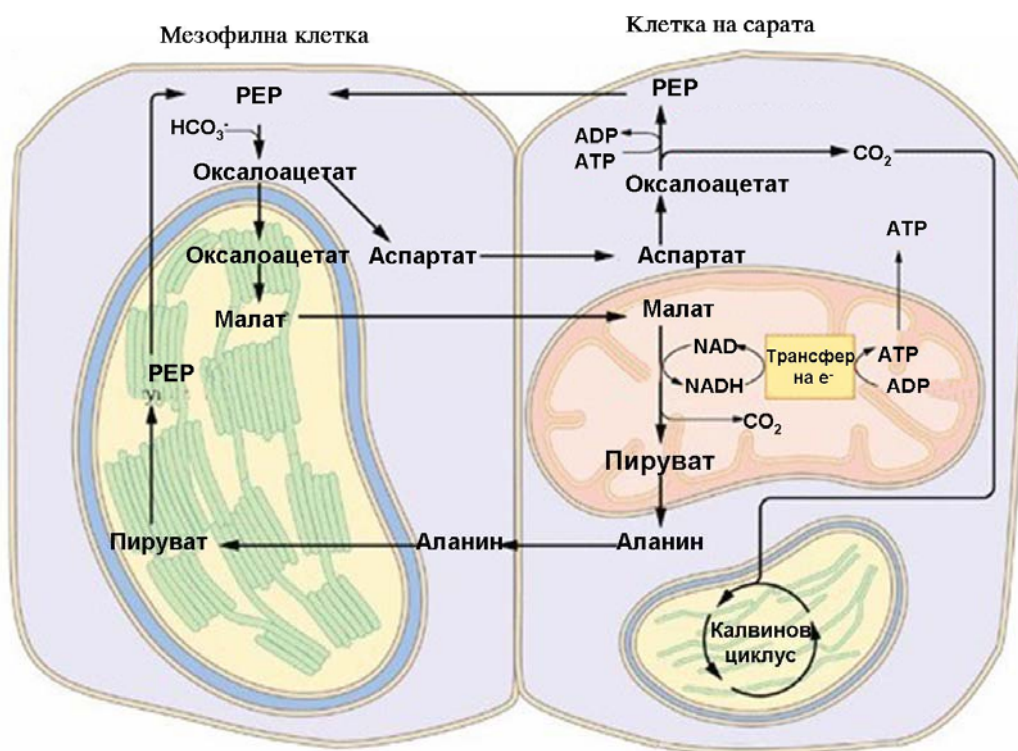


Сл. 7.14 NAD-аспартатен тип кај C-4 растенија. Мезофилната клетка и клетката на сарата разменуваат аспартат и аланин. Аспартатот преминува во оксалацетат, кој се редуцира во малат. Декарбоксилацијата на малатот во митохондриите на клетката на сарата ја врши NAD-малатна декарбоксилаза (Buchanan и сор., 2002).

Во мезофилните клетки кај **растенијата со аспартат** и **PEP-карбоксилаза (PEPCK)** од **оксалацетат** се формира **аспартат** во цитосолот и **малат** во хлоропластот. Слично како и кај претходниот тип на растенија, аспартатот од мезофилните клетки преминува во клетките на сарата. **Аспартатот** во цитоплазмата со деаминација во која учествува и **α -кетоглутаратот** дава **оксалацетат** и **глутамат**. **Оксалацетатот** под дејство на **PEP-карбоксикиназа** за чие учество е потребен **ATP** дава **PEP** и **CO₂**. CO₂ влегува во хлоропластот и учествува во редукцискиот циклус (Сл. 7.15), а PEP се враќа во мезофилната клетка. **Малатот** од хлоропластите на мезофилните клетки преминува во митохондриите од клетките на сарата, каде под влијание на **NAD-малатна декарбоксилаза** дава **пируват**, **CO₂** и **NADH**. Потоа, **пируватот** прима amino група од **глутаматот** и како **аланин** излегува од клетките на сарата во мезофилните клетки. CO₂ се користи за карбоксилација во хлоропластите. NADPH во митохондриите повторно се оксидира во електрон-транспортниот синџир и учествува во синтезата на ATP, кој е неопходен за дејство на ензимот PEP-карбоксикиназа. Аспартатот и малатот влегуваат во клетките на сарата, а аминокиселината аланинот и PEP се враќаат во клетките на мезофилот.

Кај сите три типови на C-4 растенијата, после декарбоксилација остануваат соединенија со 3 јаглеродни атоми, **пируват** или **аланин** кои се враќаат во

мезофилните клетки. Во цитоплазмата на овие клетки, **аланинот** преминува во **пируват** под дејство на ензимот **аланин аминотрансфераза**. Пируватот навлегува во хлоропластите на мезофилните клетки, каде што се регенерира PEP. Овие процеси се исти кај сите три типа на растенија. Ензимот **пируват-фосфатна дикиназа (PPDK)** пренесува една фосфатна група од ATP на **пируватот**, а друга фосфатна група на еден неоргански фосфат (Pi), при што се добива **PEP**, **AMP** и **PPi**. AMP во реакција со уште еден молекул на ATP со помош на **аденилатната киназа** произведува два молекула ADP, кој е неопходен како супстрат при процесот фотофосфорилација за синтеза на ATP. Така се регенерира PEP како акцептор за CO₂.



Сл. 7.15 PEP-карбоксикиназен (PEPCK) тип кај C-4 растенија. Од мезофилната клетка во клетката на сарата влегуваат аспартат и малат, а излегуваат PEP и аланин. Декарбоксилацијата ја вршат PEP-карбоксикиназа и NAD-малатна декарбоксилаза. CO₂ влегува во редукцискиот циклус, NADH се оксидира во електрон-транспортниот синџир и учествува во синтезата на ATP кој е потребен за активност на PEPCK (Buchanan и сор., 2002).

Производите на редукцискиот циклус во клетките на сарата се депонираат како скроб во нивните хлоропласти или како триози се враќаат во мезофилните клетки, каде што се синтетизира сахароза. Меѓутоа, сахарозата се враќа и влегува во фломот, а скробот се разложува и се транспортира преку фломот во другите растителни делови.

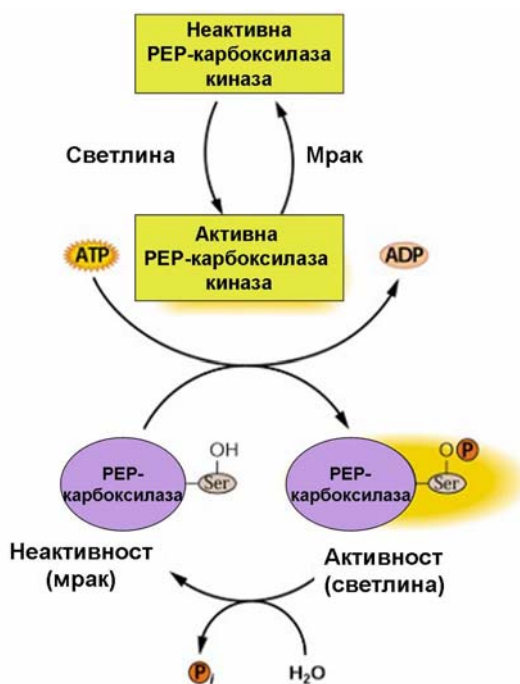
Двата вида на хлоропласти (гранални и агранални) кај C-4 растенијата се разликуваат по капацитетот за синтеза на органски соединенија. Хлоропластите на мезофилот ја извршуваат светлата фаза од фотосинтезата и произведуваат ATP и NADPH. Меѓутоа, овие хлоропласти не го содржат ензимот Rubisco, ниту пак другите ензими од редукцискиот циклус. Во редукцискиот циклус во хлоропластите на клетките од сарата се трошат 2 NADPH и 3 ATP на еден молекул фиксиран CO₂, како и кај C-3 растенијата. Меѓутоа, кај C-4 растенијата се потребни уште два молекула на ATP за регенерација на PEP. Тоа значи дека се потребни **2 NADPH и 5 ATP за еден молекул на CO₂**. Според тоа, C-4 циклусот е “поскап” од C-3 циклусот.

7.6.3 Регулација на C-4 циклусот

Клучните ензими специфични за C-4 растенијата се активираат под влијание на надворешните фактори и притоа светлината има најзначајна улога. Така на пр., **NADP-малатната дехидрогеназа** кај малатните растенија, како и **фосфоенолпируватната карбоксилаза (PEPCK)** и **пируват-ортофосфатната дикиназа (PPDK)** кај сите C-4 растенија се ензими чија активност се модифицира со промена на интензитетот на светлината. Но, начинот на регулирање на овие ензими е сосема различен.

Малатната дехидрогеназа е активна на светло под дејство на редуцираниот ферредоксин (**тиоредоксин m**), додека на темно нејзината активност воопшто не е констатирана.

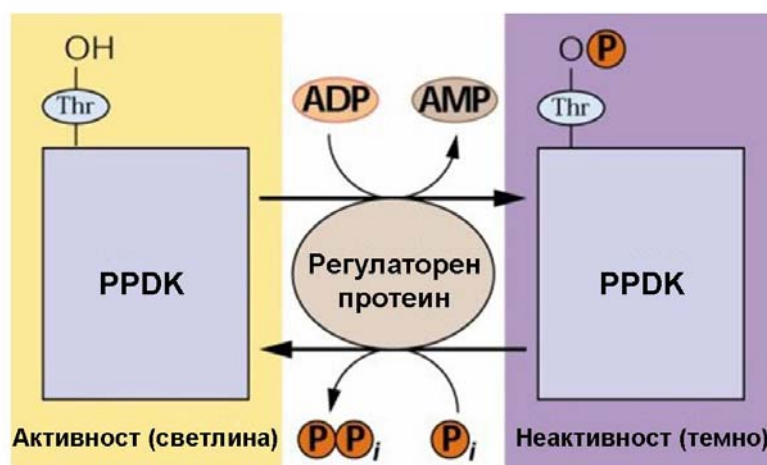
PEP-карбоксилазата (PEPCK) е активна само ако е фосфорилирана. Овој ензим се активира на светло под дејство на една киназа од групата **серин/треонин киназа**, која во присуство на АТР фосфорилира еден остаток на серинот. На темно, една **фосфатаза** отстранува една фосфатна група и PEPCK повторно се инактивира. Всушност, фосфорилацијата има влијание врз чувствителноста на PEPCK кон малатот, кој е финален производ при фиксација на CO₂. Меѓутоа, кога PEPCK не е фосфорилирана (на темно), таа е инхибирана дури и со мали количества малат. Фосфорилираната PEPCK (на светло) не е чувствителна кон малатот, така што не е спречена карбоксилацијата (Сл. 7.16).



Сл. 7.16 Регулација на PEP-карбоксилаза (PEPCK) кај C-4 растенијата. PEPCK е активен во фосфорилирана форма. Во присуство на светлина се активира киназа на PEPCK, која го фосфорилира серинот. На темно, киназата е послабо активна и поради тоа PEPCK се дефосфорилира (Buchanan и сор., 2002).

Ензимот **пируват-ортофосфатна дикиназа (PPDK)** се активира со фосфорилација при која донор на фосфатна група е АТР, а се инактивира при друга фосфорилација кога донор на фосфатна група е ADP. Активниот ензим мора да биде фосфорилиран на еден остаток од **хистидин**, а неактивниот ензим се добива при фосфорилација на еден остаток од **треонин**. Се претпоставува дека фосфатната група на треонинот го

спречува каталитичкото дејство на активниот ензим. Во присуство на светлина при вишок на АТР, фосфатот се врзува за хистидинот и ензимот е активен. На темно, кога доминира АДФ се фосфорилира треонинот, а со тоа ензимот се инактивира (Сл. 7.17). За активација во присуство на светлина потребно е фосфатот да се одвои од треонинот, а потоа хистидинот со помош на АТР да се фосфорилира (Сл. 7.17). Според тоа, активноста на ензимот зависи од статусот на АТР/АДФ во хлоропластот. Процесите на активирање и инактивирање кај ензимот PPDK се катализирани со помош на ист регулаторен протеин кој функционира како фосфотрансфераза, а најверојатно има две одвоени активни места. Исто така, при инактивирање на ензимот, донор на фосфор е АДФ што претставува исклучок, бидејќи таква улога има АТР. Но, АДФ се акумулира на темно, кога фотосинтетската фосфорилација е прекината. Високата концентрација на АДФ на темно претставува сигнал за инактивирање на PPDK.



Сл. 7.17 Регулација на пируват-ортофосфатна дикиназа (PPDK) кај C-4 растенијата. Во присуство на светлина, активниот ензим е фосфорилиран на едниот остаток од хистидинот. Инактивацијата која се одвива на темно се состои во уште една фосфорилација на остатокот од треонинот и тоа со помош на АДФ. Повторното активирање на ензимот во присуство на светлина се состои во дефосфорилација на треонинот и фосфорилација на хистидинот со помош на АТР. Двете фосфорилации се извршуваат под дејство на ист регулаторен протеин со две активни места (Buchanan и сор., 2002).

7.6.4 Продуктивност кај C-4 растенијата

Специфичниот начин на фиксација на CO_2 кај C-4 растенијата претставува процес кој овозможува концентрирање на CO_2 во хлоропластот, на местото каде што се одвива редукцискиот пентозен циклус. Всушност, тоа претставува еволутивна адаптација кај растенија кои живеат во топлите и суви предели. Главна последица на овој процес е намалената фотореспирацијата, а со тоа се зголемува продуктивноста кај C-4 растенијата.

Кај C-3 растенијата, при процесот фотореспирација се губи една четвртина од асимилираниот CO_2 , а тоа може да се избегне ако фиксацијата на CO_2 се врши под дејство на ензимот Rubisco. При висока температура, фотореспирацијата предизвикува уште поголема загуба, бидејќи е поинтензивна оксидацијата на Ru-1,5-BP. Меѓутоа, C-4 растенијата го избегнуваат овој процес со тоа што фиксацијата на CO_2 од воздухот го врши ензимот **PEP-карбоксилаза**, која има висок афинитет спрема CO_2 (односно спрема HCO_3^-) и притоа O_2 воопшто нема влијание врз активноста на овој ензим. Потоа, CO_2 преку малат или аспартат се пренесува во

клетките во кои повторно го фиксира ензимот Rubisco. Во овој случај концентрацијата на CO_2 на местото на фиксација е многу повисока. Кај малатните растенија, концентрацијата на O_2 е намалена бидејќи тие не вршат нецикличен транспорт на електрони и не произведуваат O_2 . Според тоа, на местото каде што дејствува Rubisco фаворизирана е карбоксилацијата, а прекината е фотореспирацијата.

Сепак, продуктивноста кај C-4 растенијата е во врска со нивниот воден режим. Тие живеат на висока температура и се изложени на транспирација со поголем интензитет. Во такви услови, стомите малку се отворени и концентрацијата на CO_2 во интерцелуларите е намалена. Но сепак, концентрацијата на CO_2 не е под нивото на кое PEP карбоксилазата може да го поврзе. Тоа значи дека фиксацијата на CO_2 е ефикасна на местото каде што неговата концентрација е помала. Меѓутоа, фиксацијата на CO_2 е ефикасна и онаму каде што концентрацијата на CO_2 е висока, бидејќи CO_2 успешно конкурира со O_2 за местото на ензимот. Истовремено спречено е губењето на вода што овозможува C-4 растенијата да бидат многу продуктивни на висока температура и при транспирација со повисок интензитет, во споредба со C-3 растенијата.

7.7 Фиксација на CO_2 кај сукулентни растенија

Растенијата кои живеат во топлите и суви предели претставуваат посебна еколошка група. Тие имаат сукулентни органи со карактеристични анатомски и морфолошки особини. Од физиолошки аспект, сукулентните растенија добро се приспособени на условите во средината, бидејќи имаат способност да ја ограничат транспирацијата, а истовремено да вршат и фотосинтеза. Кај овие растителни видови постои посебен начин за концентрирање на CO_2 во хлоропластите во кои се одвива редукцискиот пентозен циклус. Кај C-4 растенијата, процесите на фиксација на CO_2 од воздухот и неговата редукцијата се вршат просторно одвоени во различни клетки. За разлика од C-4 растенијата, овие два процеса кај сукулентните растенија се одвоени и временски. Кај нив, **фиксацијата на CO_2 се врши ноќе**, а истиот се користи преку денот во фотосинтезата и тоа во иста клетка (Osmond, 1978).

Сукулентните растенија припаѓаат на таксономски различни групи. Сукулентните физиолошки особини особено се карактеристични за видовите од фамилиите Crassulaceae и Cactaceae. Потоа, тука припаѓаат сите видови од фамилиите Liliaceae и Asclepiadaceae, околу 1000 видови од фамилијата Bromeliaceae, неколку илјади орхидеи и многу претставници на Agavaceae. Економски најзначајно растение кое се вбројува во групата на сукулентни растенија е ананасот.

Фиксацијата на CO_2 кај сукулентните растенија е поврзана со **метаболизмот на малатот** и овој процес прво бил проучен кај видовите од фамилијата Crassulaceae. Поради тоа, овој физиолошки процес е наречен **метаболизам на органските киселини кај Crassulaceae**. Според англискиот термин Crassulacean acid metabolism, денес се употребува кратенката CAM и се зборува за **CAM-метаболизам** и **CAM-растенија**.

Кај CAM-растенијата во услови на суша може да се забележат следниве морфолошки адаптации: стеблото и листовите се метаморфозирани, имаат задебелени крупни органи со релативно мала површина во споредба со волуменот. Листовите кај овие растенија најчесто се редуцирани или претворени во трње. Клетките на овие органи се крупни, истовремено содржат хлоропласти и голема вакуола со резерви на вода. Епидермисот на овие органи има различни заштитни елементи кои преку кутикулата ја спречуваат транспирацијата. Контролата на

транспирацијата и размената на другите гасови се врши преку стомите кои во **текот на денот претежно се затворени, а ноќе се отворени**.

Меѓутоа, сите САМ-растенија не се типични сукуленти. Поради тоа, главен критериум по кој растенијата се групираат во САМ-групата е **дневната флукуација на малатот**. Малатот се акумулира во текот на ноќта во вакуолите, а се разградува преку денот. Дневно-ноќната разлика во киселоста на клеточниот сок изнесува до две рН единици, а во текот на ноќта рН е околу 3.5. Во врска со оваа појава се и реципрочните флукуации на скробот и на другите резервни јаглехидрати, чие количество опаѓа тогаш кога малатот расте и обратно. Важно е да се истакне дека САМ-клетките се одликуваат со голема активност на ензимите **РЕР карбоксилаза** и **декарбоксилаза**.

7.7.1 Метаболизам на CO_2 кај САМ-растенија

7.7.1.1 Фиксација на CO_2 во текот на ноќта

Голем број САМ-растенија се принудени преку ден да ги држат стомите затворени, бидејќи губењето на вода може да биде значително поголемо од она количество што растенијата го примаат од почвата. Поради тоа, стомите се отвораат преку ноќ, кога транспирацијата е помала. На ваков начин, примањето на CO_2 е ограничено само во ноќниот период. CO_2 влегува од интерцелуларите во клетките на асимилационото ткиво (хлоренхимот) и во цитоплазмата како HCO_3^- се врзува за **РЕР**, со помош на ензимот **РЕР-карбоксилаза**. **Оксалацетатот** што се добива, веднаш се редуцира со помош на **NAD-дехидрогеназа** и дава **малат**. Овој процес е сличен со карбоксилацијата на РЕР кај С-4 растенијата (Сл. 7.12), со таа разлика што малатната дехидрогеназа кај сукулентните растенија е поврзана со цитосолниот NAD коензим. РЕР води потекло од скробот или другите резервни јаглехидрати, кои се разложуваат по гликолитички пат до РЕР. **Малатот** во текот на ноќта навлегува во вакуолата. Така на пр., количеството на малат во вакуолата во текот на денот изнесува $10\text{--}20 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$ свежа маса, а во текот на ноќта достигнува и до $200 \mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}$. Акумулацијата на малатот преку тонопластот е активен процес. Се претпоставува дека АТР-азата на тонопластот ги пумпа протоните во вакуолата, а малатот навлегува во вакуолата најверојатно преку специфичен котранспортер како последица на електрохемискиот градиент на протоните.

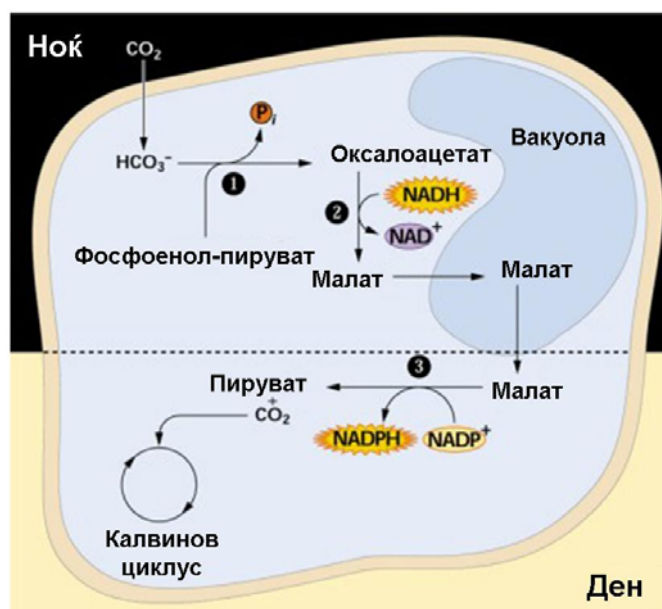
Според тоа, стомите кај сукулентите преку ноќ се отворени поради зголемената концентрација на малатот, кој при дисоцијација дава 2H^+ . Протоните со помош на H^+ -АТРаза се излачуваат од клетките затворачки во апопластот, додека K^+ јони навлегуваат во клетките преку јонските канали. Како и кај сите други растенија, причина за отворање на стомите и во овој случај е нискиот (негативен) осмотски потенцијал, што се јавува како резултат на акумулираните K^+ јони во стомините клетки. Затворањето на стомите во текот на денот секако е последица на изгубената вода од листовите.

7.7.1.2 Декарбоксилација на малатот во текот на денот

Акумулирањето на малатот во вакуолата трае во текот на целата ноќ и покрај тоа што брзината на акумулирање се намалува при крајот на ноќта. Со почетокот на новиот ден, стомите кај некои растителни видови може да бидат отворени се додека температурата не се зголеми. Всушност, за тоа време од воздухот се прима CO_2 и се користи за **карбоксилација на РЕР** и добивање на **малат**, но и за **карбоксилација на Ru-1,5-BP** во редукцискиот пентозен циклус. Потоа, постепено

стомите се затвораат и користењето на надворешниот CO_2 се намалува. Во тој момент почнува **декарбоксилација на малатот**, што излегува од вакуолата во цитоплазмата. Декарбоксилацијата се врши со помош на **NAD-малатната декарбоксилаза**, но има податоци дека сите три начини на декарбоксилација што се среќаваат кај C-4 растенијата може да се најдат и кај различни припадници од САМ-групата. Така на пр., кај некои растителни видови **малатот** прво се оксидира во **оксалацетат**, кој потоа со помош на **PEP-карбоксикиназа** се декарбоксира и притоа се добива CO_2 и PEP. Сепак, CO_2 не може да излезе од листот, бидејќи стомите се затворени и затоа се користи во хлоропластите за редукцискиот циклус. На светлина, во хлоропластите се произведуваат NADPH и АТР. Трикарбонскиот остаток од малатот или оксалацетатот служи за синтеза на скроб или други јаглехидрати, а пируватот во митохондриите може да се оксидира до CO_2 , кој повторно се вклучува во процесот фотосинтеза (Сл. 7.18).

При декарбоксилација на органските киселини се ослободува големо количество на CO_2 , кој се акумулира во хлоропластот, понекогаш дури и до 1%. Овој процес придонесува во спречувањето на фотореспирацијата, која кај сукулентните растенија е многу ниска.



Сл. 7.18 Фиксација на CO_2 и синтеза на малат кај САМ растенијата. Малатот во текот на ноќта се акумулира во вакуолата, а преку ден се декарбоксира и на тој начин обезбедува CO_2 кој се користи во процесот на фотосинтеза (Buchanan и сор., 2002).

7.7.1.3 Регулација на САМ-метаболизмот

Клучен ензим во САМ-метаболизмот кај сукулентните растенија е **PEP-карбоксилазата**. Кај овие растенија, ензимот овозможува регулирање на активностите во циклусот ден/ноќ. Постојат две форми на PEP-карбоксилаза. Едната форма преку ден (**дневна форма-неактивна**) е инхибирана во присуство на ниски концентрации на малат, додека формата која е активна преку ноќ (**ноќна форма-активна**) не е чувствителна кон малатот. Ноќната форма е **фосфорилирана** на еден остаток од **серинот (фосфорилаза)**, под влијание на киназа и АТР, при што се прекинува чувствителноста кон малатот и се овозможува активност на ензимот. Преку ден, под дејство на една **фосфатаза**, фосфатната врска се **хидролизира** и ензимот без фосфат реагира на малатот, кој ја инхибира неговата активност. По промената на чувствителноста кон малатот, по фосфорилирањето, овој ензим е

сличен на РЕР-карбоксилаза кај С-4 растенијата. Но, кај С-4 растенијата, ензимот реагира и на светло и на темно, додека кај САМ-растенијата, активноста на ензимот е регулирана со должината на денот и ендогениот ритам при смена на циклусот ден/ноќ. Регулацијата на РЕР-карбоксилаза е од големо значење за насоката на реакцијата. РЕР-карбоксилазата има висок афинитет кон CO_2 и веројатно овој ензим и преку ден би фиксирал CO_2 кој се добива при декарбоксилација на малатот, пред да се искористи во редукцискиот циклус. Регулацијата на РЕР-карбоксилаза е изразена и кај некои растенија означени како **факултативни САМ-растенија**. Тука спаѓа ананасот (*Ananas comosus*) и други. Кога овие растенија добро се снабдени со вода, тие вршат фотосинтеза по типот на С-3 растенијата. Ако настане суша или ако се појават големи дневно-ноќни разлики во температурата, овие растенија преминуваат кон САМ-метаболизмот, а тоа може веднаш да се забележи по варирањето на рН во клеточниот сок.

7.7.1.4 Продуктивност на сукулентите

САМ-растенијата во редукцискиот циклус за еден CO_2 трошат **2NADPH** и **3АТР**, но, за другите процеси им се потребени дополнителни молекули на АТР. Овие растенија трошат **1-2 АТР за регенерација на РЕР**, слично како и на С-4 растенијата. Исто така, акумулирањето на малатот во вакуолата во текот на ноќта е активен процес во кој за еден CO_2 се користи еден АТР. Потоа, за синтеза на полисахаридот кој во текот на ноќта е извор за формирање на РЕР се троши **0.5 АТР**. Кај С-4 растенијата овој полисахарид (скроб) се формира при процесот на фотосинтеза. Така на пр., кај САМ-растенијата за фиксација на еден CO_2 во просек се потребни **5.5-6.5 АТР**.

Сепак, типичните САМ-растенија (кактуси) се одликуваат со бавно растење, бидејќи кај нив фотосинтетската продукција е мала. Екстреман пример се некои мексикански кактуси, кои достигнуваат височина од 8 cm во текот на 50 години. Меѓутоа, кај видовите од *Ananas*, *Agave* и *Opuntia*, фотосинтетската продукција не е ниска. Тие имаат големи и дебели листови, со голем број клеточни слоеви чии клетки имаат крупни вакуоли. Количеството на CO_2 кое преку ноќ се фиксира во малат се ослободува преку денот. Интрацелуларната концентрација на CO_2 кај овие растенија не е помала од онаа кај С-3 растенијата и покрај тоа што имаат затворени стоми. Овие морфо-физиолошки карактеристики, ниската фотореспирација и економичното трошење на водата обезбедуваат висока продуктивност кај видовите од овие три родови.

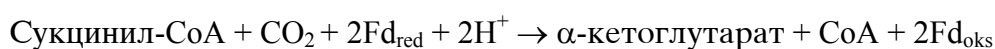
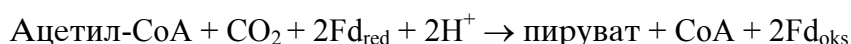
Познато е дека САМ-метаболизмот е условен со смената на денот и ноќта и како резултат на тоа многу растенија покажуваат осцилации во синтезата на малатот, што се јавуваат и при континуирано осветлување или при целосен мрак. Се претпоставува дека системот што ја регулира активноста на клучните ензими има особини на биолошки часовник (ендоген ритам).

7.8 Фиксација на CO_2 кај зелените и сулфурните бактерии

Сите фотосинтетски бактерии во светлата фаза од фотосинтезата произведуваат АТР и NADPH, кои се потребни за редукцискиот пентозен циклус. Темната фаза од фотосинтезата кај бактериите го опфаќа редукцискиот пентозен циклус, кој не се разликува од тој кај зелените растенија. Исклучок прави видот *Chlorobium limicola*, **анаеробна зелена бактерија**, која како донор на електрони користи **сулфид** и **тиосулфат**. Оваа бактерија не врши фиксација и редукција на CO_2 со помош на редукцискиот пентозен циклус, туку за асимилација на CO_2 користи цикличен процес

кој е во спротивна насока од оксидациониот циклус на трикарбоксилните киселини (Кребсов или цитратен циклус) и е познат како **редукциониот циклус на трикарбоксните киселини**. Кребсовиот циклус е централен метаболички процес при дишење кај сите аеробни организми. Тој е иреверзибилен и во него супстратот се **оксида** и **декарбоксира**. Во клетките на *C. limicola*, овој процес тече во спротивна насока и главните реакции се **редукција** и **карбоксилација**.

Кај оваа бактерија, **фередоксинот** претставува редуцент во редукциониот циклус, кој учествува во две клучни реакции. Првата реакција е редукциска карбоксилација на **ацетил-коензим А** (ацетил-СоА) и **сукцинил коензим А** (сукцинил-СоА). Ензимот **пируватна синтетаза** (пируват-фередоксин-оксидоредуктаза) ја извршува реакцијата што е реверзибилна на оксидацијата на пируватот, со помош на која се добива ацетил-СоА за Кребсовиот циклус. Втората реакција се врши со помош на ензимот **α -кетоглутарна синтаза**.



Освен во овие реакции, CO_2 се врзува уште на две места во циклусот: за **РЕР** при што се добива **оксалацетат** и за **α -кетоглутаратот** од кој се добива **изоцитрат**. Во еден циклус се фиксираат вкупно **4 молекули CO_2** .

Во споредба со оксидациониот циклус, кај редукциониот циклус на трикарбоксните киселини се забележува дека нови реакции се само редукциската карбоксилација на ацетил СоА и сукцинил СоА, во кои како редуцент се користи фередоксинот. На другите места во циклусот, оксидацијата се заменува со редукција, наместо декарбоксилација се врши врзување на CO_2 и фосфорилацијата се заменува со хидролиза на фосфатната врска.

Редукциониот циклус на трикарбоксните киселини е пронајден само кај еден вид фотосинтетска бактерија и според тоа јасно е дека овој циклус нема големо значење во природата. Меѓутоа, овој циклус има посебно значење во проучувањето на биохемиската еволуција на автотрофните организми.

7.9 Секундарни производи на фотосинтезата

Експериментите на Calvin (1961) со радиоактивен $^{14}\text{CO}_2$ овозможиле да се проучат примарните биосинтетски процеси. Хроматографската анализа на маркираните соединенија покажува дека за многу кус временски период CO_2 се вградува и во многу други соединенија, што не се членови на Калвиновиот циклус. Всушност, тоа се алтернативни патишта за некои интермедиери во циклусот, кои се почетен материјал за синтеза на секундарни соединенија. Така, радиоактивниот јаглерод многу брзо се вградува во различни јаглехидрати, масни киселини и липиди, хлоропластни пигменти, некои органски киселини, аминокиселини и протеини.

7.9.1 Транспорт на асимилатите низ мембраната на хлоропластот

Триоза-фосфатите што се јавуваат како чист принос на редукциониот циклус се користат за синтеза на производите на фотосинтезата, скробот и сахарозата. Примарниот скроб се создава во хлоропластите и во нив може да остане одредено време како резерва, а потоа се разложува и производите од разложувањето се

пренесуваат во цитоплазмата. Сахарозата се создава во цитоплазмата на асимилациските клетки и се транспортира во сите други клетки и органи.

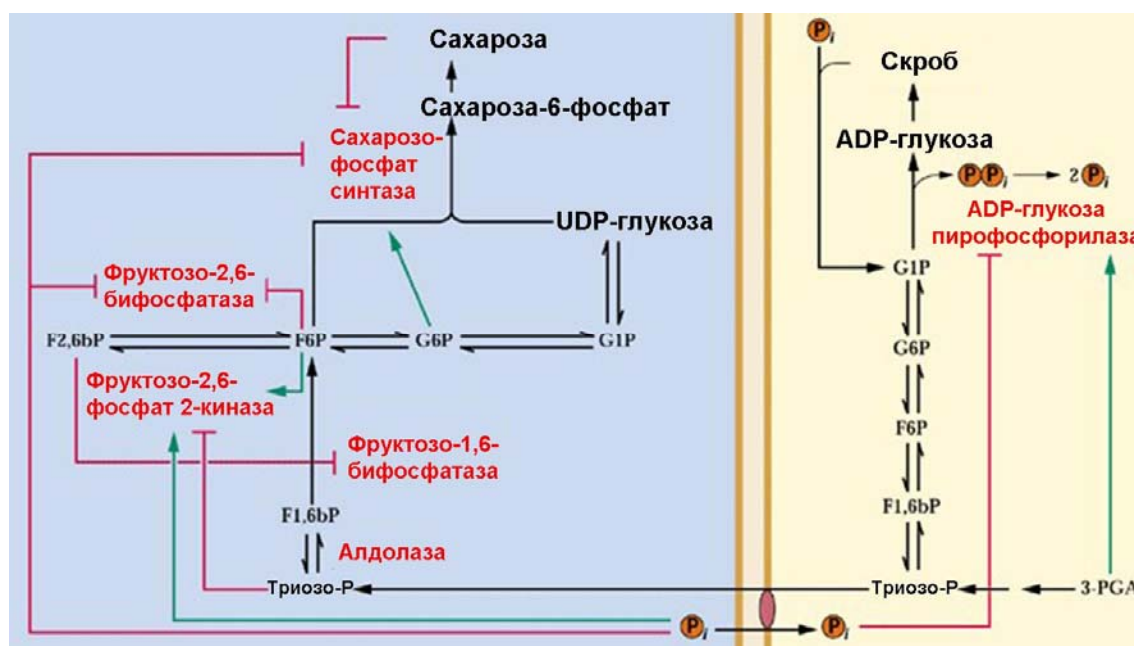
Освен јагледородни соединенија, во хлоропластот се произведуваат NADPH и АТР, кои им се потребни на сите други клетки за одвивање на редукциските и енергетските процеси. Сепак, обвивката на хлоропластот целосно е непропустлива за NADPH и АТР, но, постои друг начин за нивното пренесување во другите клетки. Имено, триоза фосфатите кои се добиле по пат на редукција со помош на NADPH и фосфорилација со помош на АТР, во себе носат редукциски еквивалент кој може да се обнови при повторна оксидација. Исто така, нивната фосфатна група може да се пренесе на некое друго соединение, а со тоа и енергијата од фосфатната врска. Тоа значи дека триоза-фосфатот е главна форма за експорт не само на органскиот јаглерод, туку и на редукцискиот еквивалент и високоенергетскиот фосфат од хлоропластот во цитоплазмата.

Триоза фосфатите се пренесуваат со помош на еден протеин, што се наоѓа на внатрешната мембрана од хлоропластот и е наречен **транслокатор на триоза-фосфат**. Овој протеин за еден изнесен молекул на триоза-фосфат, внесува еден неоргански фосфат (P_i). Присуството на неоргански фосфат во цитоплазмата е услов за да се изврши овој транспорт. Ако транспортот на триозата и фосфатот не би биле поврзани на ваков начин, тогаш хлоропластите би останале без фосфат и фотосинтезата би престанала.

Кај С-4 растенијата во изнесувањето на редукцискиот еквивалент од хлоропластот учествуваат и други транслокатори, кои во замена на фосфатот од хлоропластот изнесуваат фосфоглицерат или фосфоенолпируват.

7.9.2 Синтеза на скроб во хлоропластите

Примарниот скроб во хлоропластите се добива од **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)**, кој го напушта редукцискиот циклус. Со помош на **хексоза-фосфатна изомераза**, F-6-P преминува во **глюкоза-6-фосфат (G-6-P)**, кој под влијание на ензимот **фосфоглукомутаза** дава **глюкоза-1-фосфат (G-1-P)**. Потоа, G-1-P се врзува за АТР, а ензимот **ADP-глюкозна пирофосфорилаза** произведува **ADP-глюкоза**, која служи за синтеза на скроб. **Пирофосфатот** кој се ослободува во оваа реакција, под дејство на ензимот **пирофосфатаза** се хидролизира на два фосфати (Сл. 7.19).



Сл. 7.19 Синтеза на скроб во хлоропластите и синтеза на сахароза во цитосолот на фотосинтетските клетки на листот. Врската помеѓу овие процеси се остварува преку транспортот на триозо-фосфатни транслокаторим кои од хлоропластите изнесуваат триози во замена за еден неоргански фосфат (Buchanan и сор., 2002).

Во синтезата на скробот учествуваат два ензима. Првиот е **глукозилна трансфераза**, која гради 1→4 глукозидни врски. За нејзина функција потребно е да постои еден мал примарен молекул на α-глюкан, на кој се надоврзуваат нови молекули на глюкоза и притоа се формира неразгранетиот синџир на **амилоза**. Втората трансфераза, **Q-ензимот** гради 1→6 глукозидни врски и притоа од дел од амилозата се добива **амилопектин**. Меѓутоа, на темно скробот се разложува преку спротивни процеси и тоа со помош на **скробната фосфорилаза** до **G-1-P**. На темно, најверојатно скробот може да се разложи и со помош на **амилаза**, така што во цитоплазмата се ослободува глюкоза.

7.9.3 Синтеза на сахароза во цитосолот

Синтезата на сахарозата се одвива само во цитоплазмата од мезофилните клетки, а не во хлоропластите. Во цитоплазмата, триоза-фосфатот кој излегува од хлоропластот се вклучува во процесот **глуколиза** или **глюконеогенезата**. Глуколизата води до оксидација на триозите, а при глюконеогенеза се создаваат олигосахариди и други јаглехидрати. При гликолитичката оксидација на 3-фосфоглицералдехидот се добива редуциран NAD, а оксидацијата е поврзана со супстратна фосфорилација при што се добива ATP (Сл. 7.19). На тој начин светлосната енергија која во хлоропластот е конвертирана во хемиска и е сочувана во триоза-фосфат се враќа во форма на NADH и ATP.

Сахарозата е најважен дисахарид кој се создава во цитоплазмата на фотосинтетските клетки. Триоза-фосфатот, кој излегува од хлоропластот секогаш преку изомеразата е во рамнотежа со својот изомер. Две триози, односно **DHAP** и **GAP** со помош на **алдолаза** се кондензираат во **фруктоза-1,6-бифосфат (F-1,6-BP)**. Таа под дејство на **F-1,6-бисфосфатаза** ја губи фосфатна група и оваа реакција е прв степен во синтезата на сахарозата. Добиениот **фруктоза-6-фосфат (F-6-P)** под дејство на **хексоза-фосфатна изомераза** се преведува во **глюкоза-6-фосфат (G-6-P)**, а тој под дејство на **фосфоглукумутаза** дава **глюкоза-1-фосфат (G-1-P)**. На патот при синтеза на сахарозата, G-1-P се врзува за **уридин трифосфат (UTP)** и дава **уридин-дифосфоглукоза (UDPG)** и **пирофосфат (PPi)**. **Пирофосфатазата** го разложува PPi на два фосфати. Ензимот **сахароза-фосфатна синтетаза** ја врзува UDPG за F-6-P и се добива **сахароза-фосфат** и **UDP**. На крај, **сахароза-фосфатната фосфатаза** ја хидролизира фосфатната група и се добива **сахароза**.

Според тоа, почнувајќи од F-1,6-BP до сахароза, 4 фосфатни групи со хидролиза се одвојуваат од супстратот како Pi, а со тоа значително се зголемува нивото на Pi во цитоплазмата. Всушност, сахарозата која се синтетизира во цитоплазмата на мезофилните клетки е подготвена за транспорт преку фломот до сите други растителни делови.

7.9.4 Регулација на синтезата на скробот и сахарозата

Во метаболизмот на јаглехидратите во фотосинтетските клетки постојат неколку сукцесивни процеси кои претставуваат континуирани етапи на една единствена растителна функција. Извршувањето на таа функција е основен услов за животот на секое фотоавтотрофно растение и оваа функција ја сочинуваат следните процеси:

- синтеза на АТР и редукција на NADP во мембранскиот систем на хлоропластот,
- вградување на CO₂ во шеќерите во редукцискиот пентозен циклус,
- синтеза на скроб во стромата од хлоропластот,
- транспорт на триозите од хлоропластот во цитосолот на фотосинтетските клетки,
- синтеза на сахароза во цитосолот,
- транспорт на сахарозата од клетките на листот во флоемот и другите органи на растението.

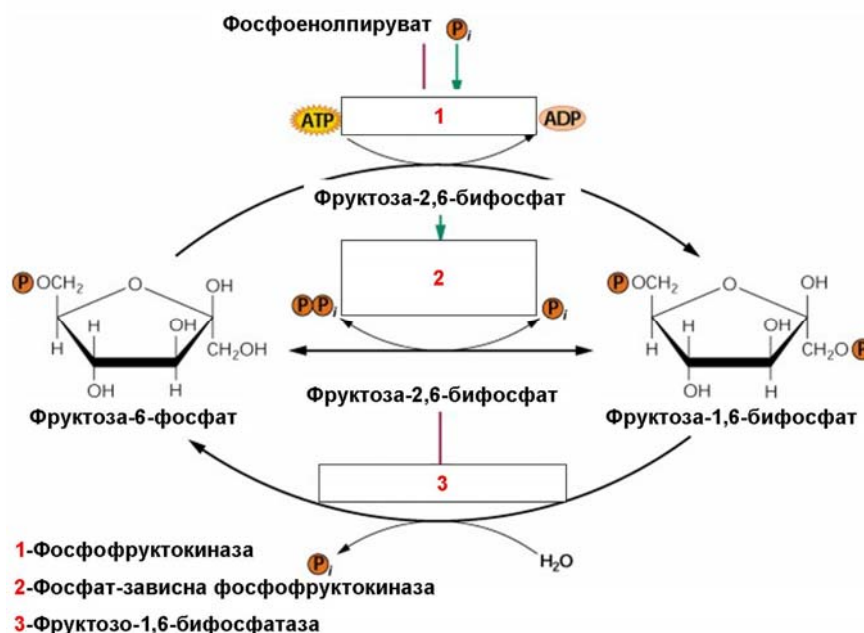
Фотосинтезата може да биде ефикасна само ако овие единечни процеси помеѓу себе се координирани и адекватно модифицирани според сигналите од надворешната средина. Според тоа, регулацијата на синтезата на скроб и сахароза е целосен процес и покрај тоа што се врши во различни делови (компартамани) од клетката. Всушност, во целиот систем постои динамична рамнотежа на клучните метаболити чија содржина има влијание врз намалената или зголемената активност на одредени ензими. Притоа, клучна улога има односот на неорганскиот фосфат (Pi) кон триозите (GAP и DHAP) или кон 3-фосфоглицератот (3-PGA).

Во природата, фотосинтезата почнува наутро кога растението ќе биде осветлено и тогаш интензивно се врши синтеза на АТР и NADPH. Исто така, вградувањето на CO₂ во 3-PGA се одвива со голем интензитет, а со редукција на 3-PGA се синтетизира големо количество на триози. Истовремено се вклучуваат и триозо-фосфатните транслокатори, кои ги разменуваат триозите и неорганскиот фосфат (Pi) помеѓу хлоропластот и цитосолот. Во стромата на хлоропластот останува ниска концентрација на 3-PGA и триози, а се појавува релативно висока концентрација на Pi. Односот **3-PGA/Pi** има влијание врз активноста на главниот ензим кој ја регулира синтезата на скробот. Тој ензим е **ADP-глукозна пирофосфорилаза**, која се активира со помош на 3-PGA, а се инхибира со Pi. Според тоа, во раниот дневен период кога количникот 3-PGA/Pi е низок, ADP-глукозната пирофосфорилаза има слаба активност и во тој случај не се синтетизира скроб, туку сите триози се користат за синтеза на сахароза во цитосолот. Во текот на денот може да дојде до намалување на синтезата на сахароза поради тоа што органите-потрошувачи се заситени, а со тоа и флоемскиот транспорт од клетките на листот се намалува. Според тоа, синтезата на скроб е во антагонизам со синтезата на сахароза. Познато е дека скробот се создава само на светло, а почетен супстрат за негова синтеза е F-6-P, која делумно се користи и за одржување на редукцискиот циклус, но значителен дел се користи за синтеза на скроб преку G-6-P. F-6-P се добива со дефосфорилација на F-1,6-BP, што се врши под дејство на ензимот **фруктоза-1,6-бисфосфатаза**. Овој ензим е активен само на светло под дејство на тиоредоксин/фередоксин системот. Според тоа, на светло се интензивира дејството на фосфатазата која произведува F-6-P, додека на темно недостасува прекурсорот за синтеза на скробот. Така, на крајот од денот и во текот на ноќта престанува синтезата на 3-PGA, а со тоа и синтезата на скроб не е стимулирана, бидејќи продолжува излегувањето на триозите од хлоропластот. Неорганскиот Pi што се акумулира во хлоропластот се користи во процесот на разложување на скробот со помош на ензимот **скробна фосфорилаза**. Според тоа, синтезата на скробот е начин за акумулирање на јаглехидратите кои моментално не се користат. Ако јаглехидратите само се натрупуваат во клетките, тогаш би се промениле осмотските односи во фотосинтетските клетки.

Триозите кои излегуваат од хлоропластот може да се користат при процесите на **глуколиза** или за **синтеза на сахароза**. При синтеза на сахароза, прво се врши дефосфорилација на F-1,6-BP и се добива F-6-P, кој натаму делумно преминува во G-6-P. Во овој случај активноста на ензимот **фруктоза-1,6-бисфосфатна фосфатаза** е

регулирана на друг начин отколку во хлоропластот. Овој ензим е под контрола на еден посебен регулаторен молекул **фруктоза-2,6-бисфосфат (F-2,6-BP)** (Stitt, 1990). Овој молекул се разликува од правиот супстрат само по тоа што носи фосфатна група на C-2 атомот, место на C-1.

F-2,6-BP е голем инхибитор на ензимот **фосфатаза** и на тој начин ја спречува дефосфорилацијата на F-1,6-BP, а со тоа и натамошните процеси на синтеза на сахарозата (Сл. 7. 20).



Сл. 7.20 Регулација на синтезата на фруктоза-2,6-бисфосфат (F-2,6-BP) во цитосолот на фотосинтетската клетка (Buchanan и сор., 2002).

F-2,6-BP се наоѓа во клетката во сосема мали количества. Всушност, тој се добива од F-6-P со помош на ензимот **фруктоза-6-фосфатна-2-киназа**, а се разградува под дејство на ензимот **фруктоза-2,6-бисфосфатаза**. Од активноста на киназата и фосфатазата зависи количеството на **F-2,6-BP**. Неорганскиот P_i ја стимулира активноста на киназата, а ја инхибира фосфатазата. Според тоа, F-2,6-BP е сигнален молекул кој го покажува односот **триоза-фосфат : P_i** во цитоплазмата. Кога во цитоплазмата има поголемо количество на триоза, а помало на P_i , тогаш е инхибирана активноста на киназата и производството на F-2,6-BP. Со тоа се ослободува активноста на F-1,6-BP фосфатазата, која произведува F-6-P и го насочува процесот кон синтеза на сахароза. Спротивно, кога концентрацијата на триоза во цитоплазмата е мала, а на P_i висока, тогаш е стимулирана активноста на киназата и синтезата на F-2,6-BP.

Всушност, F-2,6-BP е еден од најважните регулатори на метаболизмот на јагледехидратите кај сите организми, но, кај растителните организми неговата главна функција е во синтеза на сахарозата.

7.10 Фотосинтеза и продуктивност во различни еколошки услови

Од биохемиски и цитофизиолошки аспект може да се констатира дека процесите на фотосинтеза се слични кај сите виши и нижи растителни организми. Конверзијата на светлосната енергија во хемиска и примарната синтеза на органските соединенија во принцип се вршат на ист начин во изолирани хлоропласти, во суспензија на клетки или во листот на било кое растение. Но, од

еколошки аспект, кога ќе се имаат предвид особините на одделни растителни видови и типови, фотосинтезата претставува важен разновиден процес. Во текот на еволуцијата, растителните видови се приспособувале во одредени региони и живеалишта, со цел да ја одржат фотосинтезата на ниво неопходно за развиток и размножување. Приспособувањето или адаптацијата на растенијата се состои во нивната способност при процесот фотосинтеза да изградат поголемо количество на органски производи, отколку што ќе ги потрошат при дишењето и другите активности. Регулацијата на процесите на фотосинтеза и транспирација има посебно значење, бидејќи растението CO_2 прима преку stomите, но исто така преку нив и губи вода. Адаптацијата на растенијата на суви и топли места се базира на нивната способност да примат доволно CO_2 , а притоа да не изгубат големо количество на вода. Според тоа, кога се испитува влијанието на надворешните фактори врз фотосинтезата не може да се оддели нивниот ефект врз дишењето и транспирацијата.

Во природни услови, фотосинтезата зависи од својствата на растението и од надворешните фактори. Особините на секое растение генетски се одредени, но многу индивидуални својства може да варираат што овозможува оптимизација на фотосинтезата. Развојниот стадиум на растението, староста на листовите, како и анатомската градба на листовите која може да претрпи одредени модификации овозможуваат подобро искористување на светлината од страна на растението на местото каде што живее. Во текот на денот, многу растенија имаат способност да ја менуваат положбата на листовите кои ја следат положбата на сонцето, што овозможува сончевите зраци секогаш на листот да паднат под оптимален агол.

Најважни надворешни фактори кои влијаат врз интензитетот на фотосинтезата се: **водата, CO_2 , светлината, минералните соли и температурата.** Така, продуктивноста во различни екосистеми е различна. Во пустините, како и во другите суви и топли предели, недостатокот на вода е ограничувачки фактор за одвивање на фотосинтезата. Кај растенијата што живеат на високите планини и во арктичките тундри, ниската температура и кусиот вегетациски период влијаат врз процесот на фотосинтеза. Во океаните и морињата, фотосинтезата е ограничена со недостатокот на минерални соли (азот, фосфати) во горните слоеви на водата во кои осветлувањето и температурата вообичаено се поволни.

7.10.1 Светлината и CO_2 како ограничувачки фактори на фотосинтезата

Во почетокот на XX век било утврдено дека фотосинтезата зависи од концентрацијата на CO_2 во воздухот, интензитетот на светлината и температурата. Подоцна, покрај овие фактори кај растенијата била забележана и потребата од минерални соли. Постои правило дека ако еден процес зависи од повеќе фактори, тогаш неговата брзина ја одредува факторот кој е во минимум. Процесот може да се забрза само ако истовремено се зголеми интензитетот на целиот комплекс фактори.

Количеството на светлосна енергија што допира до Земјината површина е многу поголемо отколку она што се користи при фотосинтезата. Се смета дека на граничниот слој од атмосферата, вкупната енергија на зрачењето изнесува околу $1.3 \text{ kW}\cdot\text{m}^{-2}$ (=соларна константа). Значително количество енергија се апсорбира во горните слоеви од атмосферата и до површината на Земјата пристигнува само околу $0.9 \text{ kW}\cdot\text{m}^{-2}$. Видливиот дел од спектарот, од 400 до 700 nm се вика **фотосинтетска активна радијација (PAR)** и таа изнесува околу $0.4 \text{ kW}\cdot\text{m}^{-2}$. Се смета дека околу 8% од оваа светлосна енергија припаѓа на зелениот дел од спектарот, кој хлорофилот не го апсорбира, а исто така околу 8% се губат како топлина. Меѓутоа, околу 19% од радијацијата се користи за фотосинтеза и за други метаболички

процеси во листот, додека само 5% од енергијата е врзана за јагледхидратите кои се производи на фотосинтезата.

Во услови кога CO_2 не е ограничувачки фактор и кога другите услови се поволни, различно адаптираните растенија при ист светлосен интензитет имаат различен интензитет на фотосинтезата. Така на пр., во услови на силна светлина, растенијата кои живеат на добро осветлени места (**хелиофити**) постигнуваат многу висок интензитет на фотосинтеза, за разлика од оние кои живеат во сенка (**скиофити**). Меѓутоа, во услови на светлина со слаб интензитет, растенијата адаптирани на сенка многу поефикасно ја извршуваат фотосинтезата и имаат способност да опстанат и во услови во кои другите растенија изумираат. Освен многубројните морфолошки адаптации, сциофитите имаат добро развиен гранален систем во хлоропластот, а тоа во услови на сенка им овозможува високо ниво на фотосинтеза.

Растенијата од C-4 групата добро се адаптирани да живеат во средина со висок интензитет на светлина и релативно високи температури. C-4 растенијата користат 50-100% од полната сончева светлина, додека C-3 растенијата користат само 20-30%. Фотосинтезата кај C-3 растенијата достигнува максимум при пониска температура, во споредба со фотосинтезата кај C-4 растенијата која се одвива на високи температури и до 39°C . Интензитетот на фотосинтеза кај C-3 растенијата изнесува $10\text{-}35 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, а кај C-4 растенијата $60\text{-}100 \text{ mgCO}_2 \cdot \text{dm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. Според тоа, продуктивноста кај C-3 растенијата изнесува $0.5\text{-}2.0 \text{ g}$ сува тежина dm^{-2} на ден, а за C-4 растенијата е $4\text{-}5 \text{ g}$ сува тежина dm^{-2} на ден.

Фотосинтезата се мери преку количеството на произведениот O_2 или потрошениот CO_2 во единица време. При процесите на дишење и фотореспирација (се троши O_2 , а се произведува CO_2), размената на овие гасови е во спротивна насока од онаа при фотосинтеза. Дишењето може да се мери независно од фотосинтезата, ако растенијата се одржуваат на темно. Но, кога растенијата ќе се осветлат започнуваат процесите на фотосинтезата и фотореспирација, а резултатите од таквите мерења ја означуваат **привидната фотосинтеза**. Во услови на светлина со висок интензитет, фотосинтезата претставува доминантен процес, а ако светлината е послаба, интензитетот на фотосинтезата се намалува во однос на дишењето. Интензитетот на светлината, при која овие два процеса се изедначени односно кога нето производството на O_2 и CO_2 е еднакво на нула се вика **компензациона точка за светлината**. На компензационата точка, растенијата произведуваат онолку органски соединенија колку што трошат. Висината на компензационата точка го означува минимумот на светлина која е неопходна за некое растение. Компензационата точка за сциофитите и за растенијата адаптирани на слаба светлина е ниска ($1\text{-}5 \mu\text{mol}$ кванти $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), додека за хелиофитните растенија е многу повисока ($10\text{-}20 \mu\text{mol}$ кванти $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Тоа покажува дека првата група на растенија многу поефикасно ја користат светлината што им стои на располагање.

Во херметички затворен простор, растенијата во процесот фотосинтеза го трошат оној CO_2 , што го произведуваат сами при процесот дишење. На тој начин нивната фотосинтеза е ограничена со процесите на дишење и фотореспирација, при што се произведува CO_2 . По извесно време во таков затворен систем се воспоставува одредена рамнотежа помеѓу сите три процеси, а концентрацијата на CO_2 во рамнотежата се вика **компензациона точка за CO_2** .

7.11 Начини на автотрофност кај бактериите

Одреден број бактерии имаат способност за автотрофност, а со тоа се блиски до другите фотосинтетски организми. Меѓутоа, по начинот на кој ја остваруваат автотрофноста, тие не можат да се класифицираат во ниту една група од

фотосинтетските организми. Така на пр., *Archaeobacteria* ја користат светлосната енергија, но немаат типичен фотосинтетски циклус. Друга група се бактериите, кои не ја користат светлината како извор на енергија, но добиваат енергија при оксидацијата на неорганските соединенија. Тие ја користат оваа енергија за редукцискиот пентозен циклус, кој не се разликува од фотосинтезата. Поради тоа, овој процес се вика **хемосинтеза**, а бактериите што го вршат се познати како **хемосинтетски бактерии**.

Archaeobacteria претставуваат група бактерии кои сочувале некои особини од своите архаични предци. Нивен претставник е *Halobacterium halobium*, кај кого била утврдена фотосинтезата. Овој вид живее во аеробни и многу солени услови, каде концентрацијата на NaCl е 3.5-5.0. Во услови на намалена концентрација на O₂, овие бактерии преживуваат преку ферментација. Ако местото на живеење е добро осветлено, тие како извор на енергија ја користат светлината. Клеточната мембрана кај овие бактерии содржи 25% липиди и 75% протеини, кои во комплекс со пигментот **ретинал** формираат **бактериородопсин**. Овој пигмент апсорбира светлина со бранова должина од 570 nm. Клетките од *H. halobium* мора да примаат јони за да преживеат во средината со висока концентрација на соли. Кај нив постои и втор пигмент **халородопсин**, кој ја апсорбира светлината со бранова должина од 570 nm и дејствува како анјонска пумпа при што пренесува Cl⁻ јони во клетката. Исто така, кај халобактериите има уште два други родопсини: **сензорен родопсин** и **фобо-родопсин**, кои кај бактериските клетки ја регулираат фототаксијата и им овозможуваат движење кон оптималните светлосни услови.

Видот *H. halobium* може да се класифицира во фотосинтетските организми, бидејќи врши конверзија на светлосната енергија во хемиска (АТР). Тоа е единствен фотосинтетски процес без хлорофил и без синтеза на органски материи. Всушност, овој процес е најпримитивна форма на фотосинтеза и има големо значење во проучувањето на нејзината еволуција.

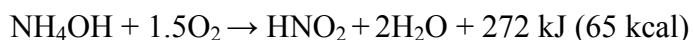
7.11.1 Хемосинтеза

Хемосинтезата е процес кој постои само кај одредени групи бактерии, кои меѓу себе и не се таксономски поврзани. Процесот се состои од две фази. Во првата фаза се врши оксидација на неорганските соединенија, при што се ослободува енергија. Оваа фаза е аналогна на дишењето, каде што енергија се добива со оксидација на органски соединенија, а не на неорганските. Сепак, и во двата случаи енергијата при оксидација се конзервира во форма на редуцирани коензими и АТР. Во втората фаза од хемосинтезата, редуцентот и АТР се користат за фиксација и редукција на CO₂. Овој процес е идентичен со темната фаза од фотосинтезата и претставува основа на автотрофијата кај хемосинтетските бактерии.

Неорганските соединенија што се оксидираат при хемосинтезата се многу разновидни. Хемосинтетските бактерии се класифицирани во различни групи, зависно од соединението што го користат за оксидација.

7.11.1.1 Нитрификација

Нитрификацијата е процес при кој амониумовите соли се оксидираат до нитрат. Првиот степен при синтеза на нитрати го вршат нитрификациските бактериите од родот *Nitrosomonas*.



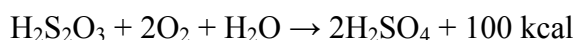
Нитритите преку активноста на бактериите од родот *Nitrobacter* се оксидираат во нитрати.



Нитрификациските бактерии од родовите *Nitrosomonas* и *Nitrobacter* имаат важна улога во кружењето на азотот во природата. Азотот постојано се обновува во почвата, како резултат на распаѓањето на органските соединенија од растително и животинско потекло. Всушност, после минерализација на органските соединенија азотот во форма на амониумови соли се враќа во почвата. Нитрификациските бактерии имаат значајна улога во формирањето на нитрати кои за поголем број на виши растенија се извор на азот од амониумот.

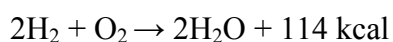
7.11.1.2 Оксидација на сулфурните соединенија

Оксидацијата на сулфурот ја вршат безбојните сулфурни бактерии кои живеат во отпадните води ($0.1\text{N H}_2\text{SO}_4$) и се значајни за нивното пречистување. Претставник е родот *Thiobacillus* кој го оксидира тиосулфатот.



7.11.1.3 Оксидација на водородот

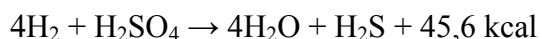
Бактериите од родот *Hydrogenomonas* го оксидираат водородот.



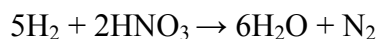
7.11.1.4 Аноксибионти

Бактериите кои ги оксидираат неорганските соединенија без присуство на O_2 , но со одземање на електрони се познати како **аноксибионти**. Тие најчесто живеат во отпадните води и во оваа група бактерии спаѓаат неколку родови.

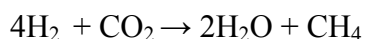
Desulfovibrio desulfuricans го оксидира водородот одземајќи електрон, кој го пренесува на сулфатот.



Micrococcus denitrificans го оксидира водородот со помош на нитрат, процес познат како денитрификација.



Methanobacterium го оксидира водородот пренесувајќи ги електроните на CO_2 , од кого се произведува метан.



Бактериите од родот *Ferrobacillus* ги оксидираат фери-соединенијата во фери форма.



7.11.2 Општо значење на хемосинтетските бактерии

При сите горенаведени оксидациски процеси се добива енергија, но ензимите што учествуваат во овие процеси сèуште не се доволно познати. Сосема е јасно дека при одземање на електрони од супстратот се редуцира некој коензим, но не е сигурно дали во овој процес учествуваат пиридин нуклеотиди. Сепак, постои некој електрон-транспортен синџир во кој учествува цитохромот *c*, кој преку цитохром оксидазата повторно се оксидира со помош на O_2 . Кај **аноксибионтите**, наместо цитохром оксидазата, краен акцептор на електрони е некое оксидирано неорганско соединение. При повторна оксидација на цитохромите доаѓа до синтеза на АТР. Оваа појава е позната како **хемосинтетска фосфорилација**, при која транспортот на електрони е поврзан со синтезата на АТР.

Хемосинтетските бактерии претставуваат важна компонента на почвената микрофлора. Многу од нив ги оксидираат солите на азотот, сулфурот и железото во почвата. Бактериите кои вршат денитрификација го намалуваат количеството на расположливиот азот, преведувајќи го во N_2 форма, која не можат да ја користат вишите растителни организми. Бактериите кои ги оксидираат азотните соединенија имаат посебно значење во кружењето на азотот, а оние што учествуваат во оксидација на сулфурните соединенија имаат посебно значење во кружењето на сулфурот во природата.