

6. ФОТОСИНТЕЗА: КОНВЕРЗИЈА НА СВЕТОСНАТА ЕНЕРГИЈА

Опстанокот на сите живи организми зависи од два типа на активност на растенијата. Прво, растителните организми имаат способност да ја конвертираат (претворат) сончевата енергија во форма која е неопходна за животот на сите организми. Второ, во текот на овој процес се ослободува кислород кој претставува услов за живот на сите растителни и животински организми.

Процесот при кој светлосната енергија се конвертира во хемиска енергија што се акумулира во форма на органски соединенија е наречен **фотосинтеза**. Постои мислење дека сите органски соединенија и кислородот потекнуваат од фотосинтезата. Имено, само зелените растенија имаат способност да ги обновуваат резервите од органски соединенија и од кислород. Со исклучок на нуклеарната енергија, сите енергетски извори во современото општество потекнуваат од фотосинтезата на постојните растителни видови или од изумрените растенија. Затоа е многу важно проучувањето на процесот на фотосинтеза од различни аспекти и на оваа проблематика работат голем број стручни тимови со различно образование. Оваа огромна и сложена област потребно е внимателно да се студира за да се разбере процесот во целина.

6.1 Ошто значење на фотосинтезата

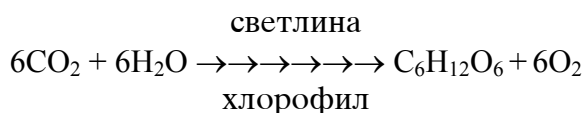
Првите сознанија за размена на гасовите помеѓу растенијата и надворешната средина потекнуваат од крајот на XVIII век. Joseph Priestly (1771) покажал дека под стаклено своно свеќата се гаси, а животните се гушат од “фиксиралиот” воздух. Но, ако во звоното се внесе гранка од зелено растение, воздухот може да се “поправи”. Jan Ingen-Housz (1779) покажал дека растенијата произведуваат “витален” воздух, но само во присуство на светлина, додека на темно и тие го “расипуваат” воздухот исто како животните. Jean Senebier (1782) утврдил дека растенијата апсорбираат “фиксиран” воздух, а произведуваат “витален” воздух. Потоа, “фиксиралиот” и “виталниот” воздух биле идентифицирани како CO_2 и O_2 .

Со тоа била откриена фотосинтетската размена на гасовите, која и денес е наједноставен показател на овој процес.

Потоа, Nicolas Theodore de Saussure (1804) го испитувал квантитативниот однос помеѓу примениот CO_2 од една страна и произведениот O_2 и сувата тежина, од друга страна. Тој заклучил дека во градбата на растителниот организам учествува и водата, која во неговиот експеримент била единствено достапна за растението. На тој начин уште пред 200 години било откриено дека растенијата растат благодарение на тоа што примаат CO_2 и H_2O , како и мало количество на минерални соли што ги примаат од почвата. Pelletier и Caventou (1818) од листот го изолирале зелениот пигмент и го нарекле - хлорофил. Robert Mayer (1845) констатирал дека за опишаниот процес секогаш е потребна светлина и го формулирал законот за конверзија на светлината. Со примена на овој закон, било потврдено дека растенијата апсорбираат светлосна енергија, а потоа ја претвораат во друг вид енергија, односно во хемиска енергија која е сврзана за производите од фотосинтезата.

Во втората половина од XIX век значајно влијание имал експериментот на Julius Sachs (1882), според кој главни производи на фотосинтезата се јаглехидратите, особено скробот. Имено, Sachs на листот што бил изложен на светло ставил непросирна сенка со изрежани различни фигури, а потоа со помош на рагенси за докажување на скроб (јод-калиум јодид) покажал дека скробот се појавувал само на осветлените делови од листот.

Во текот на XIX век, со прифаќање на клеточната теорија за градбата на живите организми детално била проучувана структурата на растителните органи. Притоа, било покажано е дека зелената боја на листовите (хлорофилот) се наоѓа во посебни клетки, односно во посебни органели кои се наречени хлоропласти. Engelmann (1883) на еден интересен начин докажал дека кислородот се ослободува само во хлоропластите. Имено, тој користел препарат од алгата *Spirogyra* и капка од култура на бактерии што предизвикуваат гниење. Кога препаратот бил осветлен, бидејќи бактериите се аеробни активно се движеле кон местото со поголема концентрација на кислород, односно околу делот на клетката во кој лежел хлоропластот. Потоа, овој автор со помош на призма ги разложил зраците од белата светлина и ги осветлувал хлоропластите со светлина со различна бранова должина. Во тој случај, бактериите се собирале околу оние делови на алгата што биле изложени на црвена и сина светлина. Имено, хлорофилот ја апсорбира светлината со оваа бранова должина и тоа било доказ дека првиот посредник во фотосинтезата е пигментот хлорофил. Сепак, општата равенка за фотосинтезата била формулирана кон крајот на XIX век на следниот начин:



Оваа равенка и денес се смета дека е точна, но го покажува само “влезот” и “излезот” во еден процес. Меѓутоа, наместо оваа равенка подобро е да се користи шемата со која фотосинтезата е претставена како “црна кутија”, во која се одвиваат и многу непознати сложени процеси, а познати процеси се “влез” (светлина, CO_2 и H_2O) и “излез” (CH_2O и O_2), (Сл. 6.1).



Сл. 6.1 Фотосинтезата е претставена како “црна кутија” во која се одвиваат непознати процеси, додека познатите процеси претставуваат “влез” (светлина, CO_2 и H_2O) и “излез” (CH_2O и O_2).

Натамошните истражувања биле насочени кон проучување на факторите што учествуваат во процесот на фотосинтеза, како што се концентрацијата на CO_2 и интензитетот на светлината. Така на пр., Blackman и сор., (1905) направиле многу обиди за мерење на интензитетот на фотосинтеза. Всушност, овие автори го мереле интензитетот на фотосинтеза при променлива на концентрацијата на CO_2 и константен интензитет на светлина или во услови кога варијал интензитетот на светлината, а концентрацијата на CO_2 била константна. Кога процесот зависи од два фактори, тогаш интензитетот на фотосинтеза е одреден од оној фактор што е во минимум. Всушност, кога интензитетот на светлина е варијабилан фактор, тогаш фотосинтезата расте линеарно до точката што е одредена со дадената концентрација на CO_2 . Процесот може да се интензивира со зголемување на

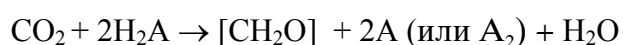
концентрацијата на CO₂, но до одредена граница, при што било покажано дека фотосинтезата може да се интензивира само со контрола на двата фактора.

Според истражувањата на почетокот на XX век, фотосинтезата опфаќа две фази:

- **фотохемиска фаза** која зависи од светлината, но како и сите фотохемиски процеси не зависи од температурата;
- **биохемиска фаза** која зависи од CO₂, но како и сите ензимски процеси зависи од температурата.

Овие фази денес се познати како **светла фаза** и **темна фаза на фотосинтезата**. Во првата фаза влегуваат процесите кои директно зависат од светлината, а во втората фаза сите други процеси во кои учествува CO₂ и за кои светлината е потребна како регулатор, но не како извор на енергија.

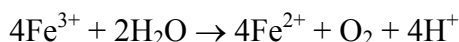
Во првата половина од XX век, Van Niel (1931) го проучувал процесот на фотосинтеза кај фотосинтетските сулфурни бактерии кои се анаеробни и го претставил со следната формула:



Според оваа формула, А кај зелените растенија означува кислород кој се ослободува од водата како O₂, додека А кај анаеробните бактерии означува сулфур кој се ослободува како 2S. Според тоа, соединението H₂A во овој процес се оксидира, а CO₂ се редуцира.

Согласно со овие испитувања, Ruben и Kamen (1941) користеле изотоп на кислородот ¹⁸O и докажале дека кислородот навистина потекнува од водата, односно се добива при фотолиза на водата. Исто така, било потврдено дека CO₂ се редуцира со помош на протоните од водата, а од OH⁻ јоните се ослободува O₂.

Опитите на Engelmann (1883) со алгата *Spirogyra* покажале дека фотосинтезата се одвива во хлоропластите. R. Hill (1937) успеал да изолира хлоропласти од зелени листови и истите да ги одржи во функционална состојба надвор од клетките. Кога суспензијата со хлоропласти била осветлена тие ослободувале O₂, но само ако во растворот бил доден некој акцептор за електрони, како што е фери јонот (Fe³⁺), кој притоа се редуцира во феро форма (Fe²⁺).

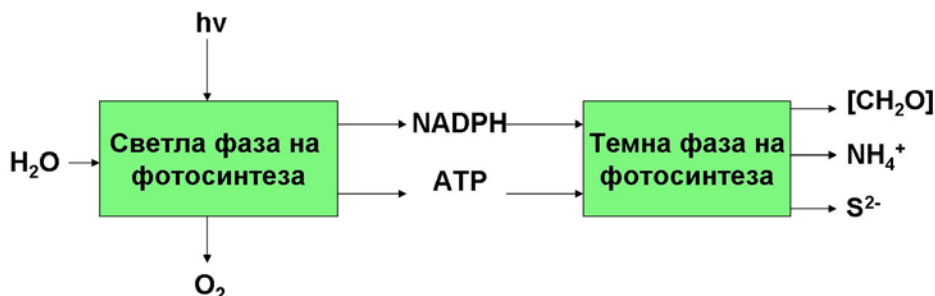


Оваа Хилова реакција докажала дека хлоропластите се способни да ја вршат светлата фаза од фотосинтезата независно од другите клеточни делови. Меѓутоа, во Хиловите опити, хлоропластите не ја извршувале темната фаза од фотосинтезата, бидејќи многу растворливи ензими биле уништени. Подоцна било докажано дека изолираните хлоропласти може да ја вршат и темната фаза без учество на цитоплазмата. Меѓутоа, кога хлоропластите биле разложени со ултразвук и мембранскиот систем бил одвоен од течниот дел на хлоропластот било утврдено дека светлата фаза се одвива во мембраните, а темната во стромата на хлоропластот. На тој начин било докажано дека овие две фази просторно се одвоени една од друга.

Со примена на радиоизотопи во живите клетки биле откриени многу биохемиски процеси. Така на пр., била откриена улогата на дехидрогеназите, кои се врзани за простетичните групи NAD и NADP во оксидо-редукциските процеси. Во овој случај, NADP е соединението што се редуцира при фотосинтезата, а со протоните и електроните од водата се формира NADPH (San Pietro, 1954). Исто така, бил идентифициран и аденозин трифосфатот (ATP) како пренесувач на енергијата. Имено, ATP е производ на конверзијата на светлосна енергија во хемиска енергија

(Arnon, 1955). Всушност, синтезата на АТР во процесот фотосинтеза е наречена како фотосинтетска фосфорилација. На тој начин било потврдено дека фотосинтезата опфаќа две фази:

- светлата фаза: оксидацијата на водата, редукцијата на NADP во NADPH, фосфорилација на ADP во АТР и ослободување на O₂;
- темната фаза: редукцијата на CO₂, -NO₂⁻ и -SO₃²⁻ и синтеза на јаглехидрати и други органски соединенија (Сл. 6.2).



Сл. 6.2 Шематски приказ на светлата и темната фаза на процесот на фотосинтеза, кои ги поврзуваат производите на светлата фаза (NADPH и АТР).

6.2 Автотрофни и фотосинтетски организми

Познато е дека растенијата и алгите содржат хлорофил и имаат способност да вршат фотосинтеза. Всушност, овие организми во присуство на светлина имаат способност да ослободуваат кислород, а за синтеза на органски материи користат само CO₂ и вода, појава позната како **автотрофија**. Подоцна биле откриени и бактерии, кои во присуство на светлина користат CO₂, но не ослободуваат кислород. Автотрофијата кај зелените растенијата и овие бактерии се базира на искористување на светлосната енергија и поради тоа се наречени **фотоавтотрофни**. Одредена група на бактерии за автотрофија користат хемиска енергија, ослободена при оксидација на неоргански соединенија и оваа појава е позната како **хемоавтотрофија**.

Во таб. 6.1 е дадена класификацијата на фотосинтетските организми.

6.3 Хлоропласти

Организмите што се способни да вршат фотосинтеза содржат посебни органели или мембрански везикули во кои се наоѓаат фотосинтетските пигменти. Еукариотските организми (алги, мовови, папрати и вишите растенија) во клетките содржат повеќе видови **пластиди**. Пластидите потекнуваат од **пропластидите**, што се наоѓаат во меристемските клетки. Пластидите имаат тркалезна или овална форма со дијаметар до 0.2 до 1.0 μm. Тие се исполнети со **строма** во која се наоѓаат мал број на сплеснати ламели. Фотосинтезата се одвива во **хлоропластите**, кои содржат пигменти **хлорофили**. Прокариотските организми, меѓу кои спаѓаат Суанобактерија и фотосинтетските бактерии немаат пластиди, а фотосинтетските пигменти се сместени во мембранските творби на цитоплазмата или во клеточната мембрана. Кај вишите растенија клетките на многу органи содржат хлоропласти, но најголем број на овие органели се наоѓаат во мезофилните клетки на листот. Поради тоа, листовите се главни органи во кои се врши процесот фотосинтеза.

Таб. 6.1 Преглед на главните групи фотосинтетски организми и нивни претставници.

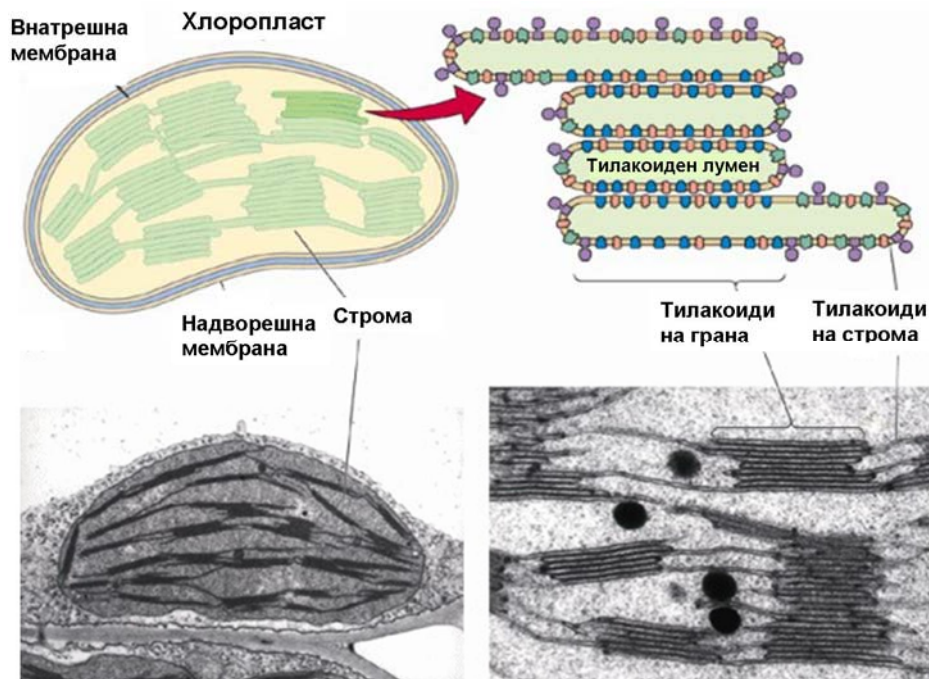
Таксономска група	Претставник	Пигменти и други особини
Prokaryota		
Archaebacteria	<i>Halobacterium halobium</i>	Бактериородопсин, ретинал, халофилни, аеробни
Eubacteria		
Chlorobiaceae	<i>Chlorobium limicola</i>	Бактериохлорофили а, с, d или е, зелени сулфурни бактерии, анаеробни
Chloroflexaceae	<i>Chloroflexus</i>	Бактериохлорофили а, с, d или е, зелени несулфурни, факултативни анаероби
Chromatiaceae	<i>Chromatium</i>	Бактериохлорофили а или b, пурпурни сулфурни
Rhodospirillaceae	<i>Rhodospirillum</i>	Бактерохлорофили а или b; пурпурни несулфурни, хетеротрофни на темно
Cyanobacteria (Cyanophyta)*	Сите модрозелени алги	Хлорофил а, фикобилини, симбионти во лишаите, diazotrophic
Prochlorophyta	<i>Prochloron</i>	Хлорофили а и b, симбионти
Eucaryota		
Rhodophyta	Црвени алги	Хлорофили а и d, фикобилини
Chromophyta	Кафеави алги	Хлорофили а и с
Chlorophyta	Зелени алги	Хлорофили а и b
Bryophyta	Мовови	Хлорофили а и b
Pteridophyta	Папрати	Хлорофили а и b
Gymnospermae	Голосемени растенија	Хлорофили а и b
Angiospermae	Скриеносемени растенија	Хлорофили а и b

* Класификацијата на модрозелените алги е сеуште дискутабилна.

6.3.1 Градба и состав на хлоропластите

Хлоропластите кај вишите растенија се слични помеѓу себе, додека кај алгите покажуваат поголема разновидност по бројот, димензиите и формата. Кај растенијата, хлоропластите имаат кружна форма со дијаметар 4-10 μm и дебелина 3-4 μm . Бројот на хлоропластите во клетките варира зависно од растителниот вид, типот на клетките и други услови. Некои алги имаат само еден хлоропласт во клетката, додека кај други бројот е различен. Со примена на електронска микроскопија е откриено дека хлоропластите имаат многу сложена внатрешна градба, во која се разликуваат (Сл. 6.3):

- **Мембранска обвивка** која го одвојува хлоропластот од цитоплазмата;
- **Внатрешен мембрански систем** во кого и под оптички микроскоп се забележуваат зрнца со зелена боја, со големина околу 0.4 μm наречени **грана** (*granum* = зрно, лат.);
- **Строма** прозрачна течност која го испонува хлоропластот.



Сл. 6.3 Внатрешна градба на хлоропластите (Buchanan и сор., 2002).

Хлоропластите се обвивени со две мембрани чија дебелина изнесува 6 nm, а помеѓу нив се наоѓа **перипластидијален простор** широк 10-20 nm. Се смета дека внатрешната мембрана е главен регулатор на транспортот помеѓу хлоропластот и цитоплазмата, а надворешната мембрана е многу пропустлива. Имено, внатрешната мембрана содржи многу партикули, кои претставуваат транспортни протеини и транслокатори на органските материи. Кај поголем дел од C_4 растенијата, во периферниот дел на хлоропластот, внатрешната мембрана гради разгранети тубуларни структури кои се викаат **перифериски ретикулум**. Слични вакви структури се наоѓаат и во хлоропластите на стомините клетки. Се претпоставува дека тие го олеснуваат транспортот помеѓу хлоропластот и цитоплазмата.

Кај вишите растенија, внатрешниот мембрански систем се состои од сплескани мембрански везикули, кои личат на дискови и се наречени **тилакоиди** (*thylakos* = кеса, вреќа, грч.). Внатрешноста на тилакоидите се вика **лумен**. На одредени места, поголем број на тилакоиди се тесно збиени и поврзани еден над друг, при што формираат столб (сличен на столбот од монети). Таквите наслаги од тилакоиди формираат структура позната како **грана**. Покрај гранални, постојат и подолги, поединечни тилакоиди помеѓу соседните грани, познати како **стромални тилакоиди** (тилакоиди на стромата). Според новите истражувања, еден стромален тилакоид спирално го обвива граналниот тилакоид. На местото, каде што се допираат стромалниот и граналниот тилакоид не постои мембрана. Всушност, еден стромален тилакоид се издолжува од еден до друг гранален тилакоид и поради тоа се смета дека **луменот** (луминалниот простор) е единствен за целиот хлоропласт.

Структурата што се состои од тилакоиди на граната и тилакоиди на стромата е карактеристична за сите виши растенија. Исклучок е групата малатни C_4 растенијата. Во листовите на овие растенија, клетките на палисадниот и сунѓерестиот паренхим содржат типични гранални хлоропласти, но постои и еден посебен слој на клетки околу спроводните снопиња кои сочинуваат обвивка или сара. Во хлоропластите на тие клетки се наоѓаат многу долги тилакоиди, кои се издолжуваат паралелно по целата должина од хлоропластот и не градат грана или

граните се редументирани. Овие **агрални хлоропласти** имаат посебна функција при фотосинтезата.

Стомините клетки имаат недоволно развиена грана и потсетуваат на хлоропластите од сарата на спроводните снопиња кај C_4 растенијата.

6.3.2 Состав на тилакоидните мембрани

Сите мембрани што влегуваат во состав на хлоропластите се изградени согласно со течниот мозаичен модел. Хлоропластите имаат двојна мембрана (надворешна и внатрешна), кои по хемиски состав се различни. Надворешната мембрана е слична со другите мембрани во клетката, но, со мало присуство на фосфолипидите **фосфатидилглицерол** и **фосфатидилхолин**. Внатрешната мембрана содржи специфични транспортери со чија помош се врши транспорт на метаболити помеѓу хлоропластот и цитоплазмата. Липидите што влегуваат во состав на тилакоидните мембрани ретко се присутни во нефотосинтетските биолошки мембрани. Во тилакоидните мембрани доминантни се **галактолипидите**, моно и ди-галактозил-диацилглицерол (70%), како **сулфолипидите** (10%). Поголем дел од не-ацилните липиди се претставени со пигментите и киноните. Хлорофилите се застапени со 20% од сите липидни соединенија. Масните киселини што влегуваат во составот на липидите се незаситени, а стеролот е застапен со 0.5%. Имено, тилакоидните мембрани имаат голема флуидност и овозможуваат висока латерална подвижност на интегрираните протеини.

Протеините кои во мембраната се застапени со 50% и главно се претставени со полипептиди, а се синтетизираат во хлоропластите и цитоплазмата. Протеините во комплексите можат да имаат различни ензимски функции, но првенствено служат како носачи за кои на специфичните места се врзани пигментите и пренесувачите на електрони. Преку ваквото поврзување се овозможува потребното растојание помеѓу два пренесувачи, така што пренесувањето на светлосната енергија и електроните низ мембраната може да се изврши по утврден редослед и насока.

Тилакоидните мембрани се асиметрични, а тоа е важно за извршување на нивната функција. Постои мислење дека внатрешниот мембрански систем на хлоропластите се добива со растење на примарните ламели од пропластидот. Потоа, тилакоидите се разгрануваат еден над друг и формираат грани или се издолжуваат низ стромата и се поврзуваат со соседните тилакоиди. Меѓутоа, нивното формирање се завршува дури кога во нив ќе се вградат комплексите од протеини и пигменти. Пигментите се создаваат во стромата, а поголем дел од протеините се синтетизираат во цитоплазмата.

Растворот на стромата е сличен со оној на цитоплазмата. Во него се наоѓаат производи од фотосинтезата, многу метаболити и протеини кои имаат ензимска функција, како и нуклеински киселини. Од производите на фотосинтезата присутни се скробните зрна и липидните капки (**пластоглобули**), особено во листовите кои растат и кај растенијата кои растат на темно. Пластоглобулите главно содржат липофилни кинонски соединенија и каротеноиди. Во стромата се наоѓа DNA на хлоропластот и рибозоми од типот на 70S. Исто така, во стромата е присутна информативната RNA (mRNA), транспортната RNA (tRNA), како и други фактори неопходни за синтеза на протеините.

Мембранскиот систем на хлоропластите нивната внатрешност ја дели на три дела. Првиот дел е просторот помеѓу внатрешната и надворешната мембрана познат како перипластидијален простор и во него се регулира транспортот помеѓу хлоропластот и цитоплазмата. Вториот дел е луменот на сите тилакоиди, кој најверојатно е единствен во еден хлоропласт. Третиот дел е стромата на хлоропластот. Со помош на мембраните, сите три компартмани се добро изолирани

еден од друг. Овие мембрани содржат специфични протеини кои го регулираат транспортот во двете насоки со што се овозможува непрекината размена на сите производи од фотосинтезата (метаболити и јони) како помеѓу трите компартмани, така и помеѓу хлоропластот и цитоплазмата.

Хлоропластите кај алгите се разликуваат по својата внатрешна градба. Така на пр., кај зелените алги, тилакоидите се долги и 2-6 тилакоиди се приближуваат и формираат грана. Црвените алги имаат поединечни тилакоиди кои не формираат грана, но на површината носат посебни структури што содржат пигменти и се викаат **фикобилизоми**. Кафеавите алги се разликуваат од другите, по тоа што имаат поединечни тилакоиди.

Модрозелените бактерии имаат ламеларни тилакоиди кои лежат паралелно во цитоплазмата и често формираат концентрични кругови. Тилакоидите не формираат грана, а на површината носат **фикобилизоми** слични на оние кај црвените алги. Кај пурпурните бактерии, фотосинтетскиот апарат се наоѓа во плазмалемата. Кај овие бактерии, мембраната формира инвагинации кои на напречен пресек изгледаат како одвоени везикули наречени **хроматофори**. Кај зелените бактерии нема вакви инвагинации и мембраната од внатрешната страна носи посебни глобули со пигменти, кои се викаат **хлорозоми**.

6.4 Пигменти

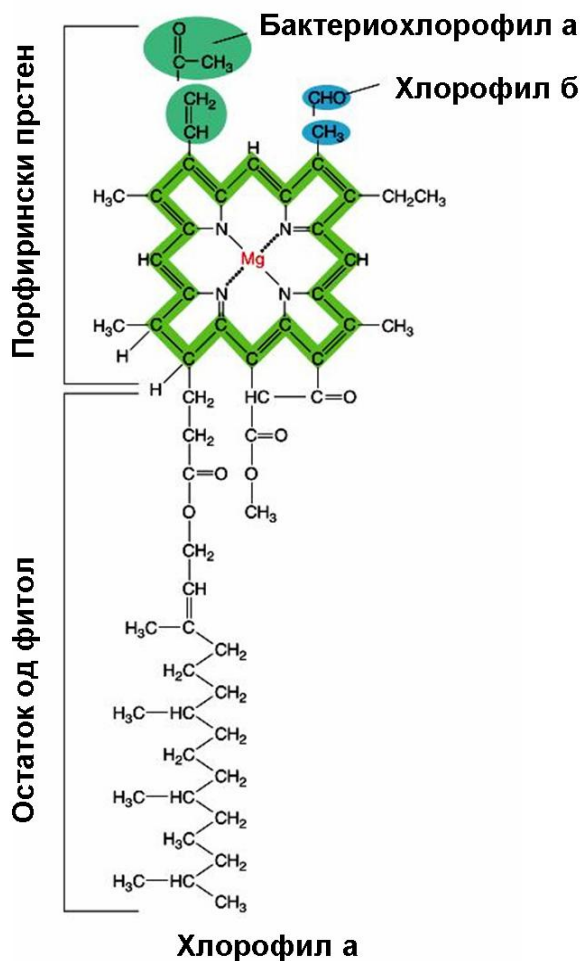
Во сите фотохемиски процеси, светлината може да биде активна само ако е апсорбирана. Светлината која се рефлектира или пропушта нема никаква фотохемиска активност. Апсорпција на светлината со одредена бранова должина вршат пигментите, што имаат боја како на пропуштената или на одбиената светлина. Во фотосинтезата учествуваат три групи на пигменти: **хлорофили**, **каротеноиди** и **фикобилини**.

6.4.1 Хлорофили

Хлорофилите се зелени пигменти кои учествуваат во процесот на фотосинтеза (Сл. 6.4). Според хемиската структура, тие претставуваат деривати на цикличните тетрапироли кои градат **порфириински прстен** и се слични со другите порфириински соединенија, како што е хемот. Во центарот на порфириинскиот прстен, хлорофилите имаат атом магнезиум, но формираат и петти циклопентанонски прстен. Хлорофилите се естри на дикарбоксилните **хлорофиллински киселини**, во кои едната киселинска група е естерифицирана со остаток од **метанол**, а втората со остаток од **фитол**. Фитолот е незаситен алкохол со долг синџир ($C_{20}H_{39}$) кој има изопреноидно потекло.

Биосинтезата на порфириинските соединенија во растителните и анималните клетки е сложен процес, што се состои од голем број на поединечни реакции (Castelfranco и Beale, 1983). Тие можат да се групираат во три степени:

- биосинтеза на 5-аминоливулинска киселина, прекурсор на сите порфирини;
- процеси од прекурсорот до синтеза на протопорфириинот IX, што се идентични за сите порфирини;
- процеси од протопорфириинот IX до хлорофилот, кои се специфични за ова соединение.



Сл. 6.4 Структурен приказ на хлорофил а, хлорофил б и бактериохлорофил а.

6.4.1.1 Видови и распространување на хлорофили

Кај растенијата постојат повеќе видови на хлорофили означени со буквите **a**, **b**, **c** и **d**. Нивната распространетост кај растенијата е различна. Сите фотосинтетски организми (освен бактериите) содржат хлорофил **a**. *Cyanobacteria* содржи само хлорофил **a**; *Prochlorophyta*, *Euglenophyta*, зелените алги (*Chlorophyta*) и вишите растенија содржат хлорофили **a** и **b**; црвените алги (*Rhodophyta*) содржат хлорофили **a** и **d**; а кафеавите алги (*Chrysophyta*, *Pyrrophyta* и *Phaeophyta*) имаат хлорофили **a** и **c**. Сите фотосинтетски бактерии содржат бактериохлорофил а (Сл. 6.4).

Меѓу хлорофилите **a**, **b** и **d** не постојат големи разлики. Хлорофилот **a** има метил група на C-7 атомот, хлорофилот **b** содржи алдехидна група, а хлорофилот **d** има алдехидна група на C-3 атомот. Меѓутоа, структурата на хлорофилот **c** се разликува од другите хлорофили. Постојат две форми на хлорофил **c** и тоа **c1** и **c2**, кои имаат различни групи на C-8 атомот, но овој хлорофил нема фитол, а на четвртиот прстен содржи остаток на пропионската киселина и на овој прстен има незаситена врска. Бактериохлорофилот **a** се разликува од хлорофилот **a** по тоа што има CO на C-3 атомот и прстенот II нема незаситена врска (CH₃ група). Некои алги (*Xanthophyta*) и фотосинтетски бактерии содржат посебен хлорофил **e**. Разликите помеѓу хлорофилите се прикажани во Таб. 6.2.

Таб. 6.2 Различни видови на хлорофил, што се разликуваат меѓу себе по супституцијата на атомите на јаглерод.

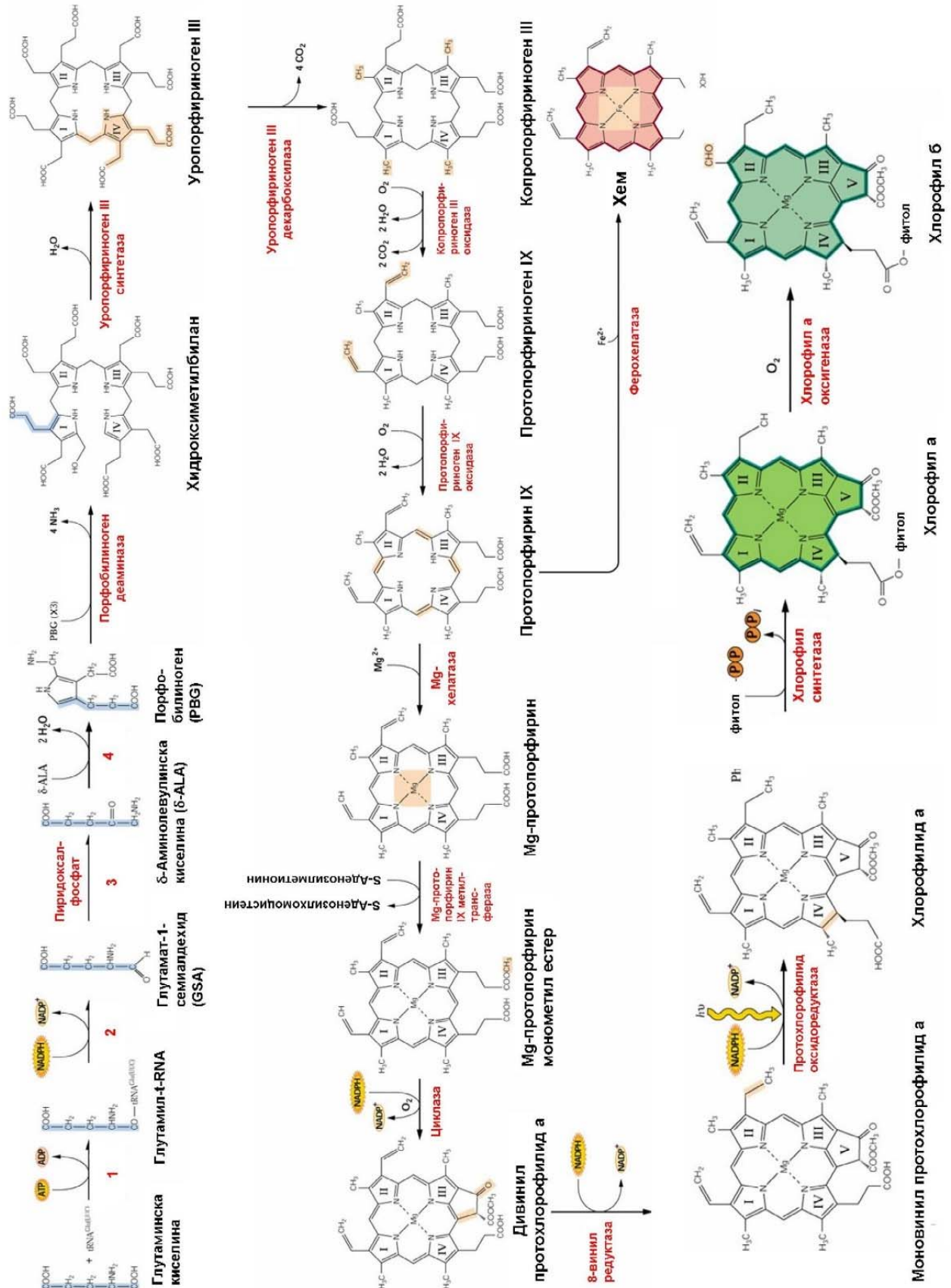
Видови пигменти	R1	R2	R3	R4
Хлорофил а	CH ₃	C ₂ H ₅	фитол	CHCH ₂
Хлорофил b	CHO	C ₂ H ₅	фитол	CHCH ₂
Хлорофил c1	CH ₃	C ₂ H ₅	акрил	CHCH ₂
Хлорофил c2	CH ₃	CHCH ₂	акрил	CHCH ₂
Хлорофил d	CH ₃	C ₂ H ₅	фитол	CHO
Бактериохлорофил а	HCH ₃	HCH ₃	фитол	COCH ₃
Бактериохлорофил b	CH ₃	C ₂ H ₅	фарнезол	CH ₃ CHOH

6.4.1.2 Биосинтеза на 5-аминолевулинската киселина

Почетно соединение во синтеза на порфирирот е **5-аминолевулинската киселина (ALA)**, која се добива на два начина. Во анималните клетки, габите и некои бактерии (*Rhodobacter*, *Rhizobium*), ALA се добива со кондензација на **сукцинил-СоА** и аминокиселината **глицин**, под дејство на ензимот ALA синтетаза, при што се ослободува CO₂. Меѓутоа, кај вишите растенија, многу бактерии (*Eubacteria* и *Cyanobacteria*), таа се добива од молекул на **глутаминската киселина** преку **C5 патот**. Сепак, синтезата на порфирирот се надоврзува на интермедиерните соединенија, односно дериватите на Кребсовиот циклус. Во C5 патот, глутаминската киселина со помош на **синтетаза** се врзува за **транспортната RNA^{Glu} (tRNA^{Glu})**, која инаку ја пренесува оваа киселина при синтеза на протеини, а овде има улога на како кофактор за редуцирачкиот ензим **глутамат-tRNA-редуктаза**. За врзување на tRNA потребен е АТР и Mg²⁺ јони. Под дејство на редуктазата чиј кофактор е NADPH се добива **глутамат-1-семиалдехид (GSA)** и слободна tRNA^{Glu}. Во втората реакција, ензимот **глутамат семиалдехидната аминотрансфераза** го заменува местото на аминогрупата и се добива 5-аминолевулинска киселина (ALA) (Сл. 6.5).

Гените кои ја кодираат glu-tRNA-редуктазата и GSA-аминотрансферазата се изолирани од геномот на *Arabidopsis thaliana*. Нивните транскрипти (mRNA) се најдени во сите ткива на ова растение, а светлината го зголемува нивото на транскрипцијата (Plag и сор., 1994). Со тоа директно се потврдени истражувањата дека при синтеза на прекурсорите на хлорофилот е потребна светлина.

Процесите од 5-аминолевулинската киселина (ALA) до синтеза на протопорфирин IX се одвиваат на следниот начин. Имено, со кондензација на две молекули на ALA се добива циклично соединение со петочлен прстен, **порфобилиноген**. Кондензацијата се одвива под дејство на ензимот **порфобилиноген синтетаза** (или ALA-дехидратаза), при што се ослободуваат две молекули на вода. Порфобилиногенот е пирол, хетероциклично соединение што содржи азот во прстенот и слободни остатоци на оцетна и пропионска киселина. Потоа, четири молекули на порфобилиноген се кондензираат со помош на **порфобилиноген деаминаза** и **уропорфириноген синтетаза** и формираат **порфириносен прстен**. На тој начин се добива првото порфириноско соединение, **уропорфириноген III** (или уроген III) (Сл. 6.5).



Сл. 6.5 Биосинтеза на хлорофил а и хлорофил б во присуство на светлина во листовите кај вишите растенија. 1- глутамат-tRNA-синтетаза, 2- глутамат-tRNA-редуктаза, 3- глутамат-1-семиалдехид аминотрансфераза, 4- ALA-дехидратаза (Buchanan и сор., 2002).

Со декарбоксилација на оцетната киселина се добива **копропорфириноген** (копроген), а со оксидациона декарбоксилација на пропионската киселина (на С атомите 3 и 8) се добиваат две винил групи, а соединението се вика **протопорфириноген IX** (протоген IX). Ова соединението се оксидира со губење на 6 протони и електрони, при што се добива **протопорфирин IX**, кој е последен заеднички прекурсор на сите порфирины. Всушност, протопорфиринот IX прима атом од метал во центарот на прстенот, а зависно од тоа кој метал влегува во состав на прстенот зависи и кое соединението ќе се добие (Сл. 6.5).

Под дејство на ензимот **Mg-хелатаза** во центарот на прстенот се вградува **магнезиум**, а од **Mg-протопорфиринот** се добиваат **хлорофилите**. Со вградување на **железо** во прстенот се добива **хем**, кој е протетична група на хемоглобинот, на различните цитохроми, на ензимите каталаза и пероксидаза и други. Постои можност порфиринскиот прстен повторно да се раскине и да не врзе метал. Тогаш се добива линеарен синцир од четири пиролови прстени. Така се формираат протетичните групи на **жолчните пигменти** (билини) во животинските клетки и кај човекот. Кај модрозелените бактерии и црвените алги се добиваат пигментите **фикобилини**, а кај сите виши и многу нижи растенија на ваков начин се формира протетичната група од пигментот **фитохром**.

Процесите од Mg-протопорфиринот до хлорофилот се одвиваат на следниот начин. Прво Mg-протопорфиринот трпи промени на страничните синцири во третиот прстен, при што доаѓа до естерификација на пропионската киселина со метил група, а потоа се формира петтиот изоцикличен прстен со што се карактеризира хлорофилот. Со редукција на страничниот винил синцир на прстенот II се добива **протохлорофилид а**, кој е близок прекурсор на хлорофилот а. Имено, протохлорофилид а се разликува од хлорофилот по тоа што нема фитол и прстенот IV не е редуциран туку има незаситена врска. Со редукција на протохлорофилидот се добива **хлорофилид а**, но според начинот на редукција растенијата се делат на две големи групи. Фотосинтетските бактерии, алги, мовови и папрати го извршуваат овој процес на темно. Кај скриеносемените растенија, протохлорофилидот се редуцира само во присуство на светлина (Сл. 6.5).

Разликите во начинот на редукција на протохлорофилидот се состојат во тоа што овај процес го вршат два различни ензима. Ензимот кој врши редукција на темно се состои од три полипептиди кои се изолирани од бактериите, а потоа нивното присуство било потврдено во геномот на хлоропластите кај сите еукариоти кои го редуцираат протохлорофилидот на темно. Редукцијата на протохлорофилидот, која е зависна од светлината ја врши ензим кој е кодиран во геномот на јадрото. Овој ензим се создава на рибозомите во цитоплазмата, а потоа се внесува хлоропластите и етиопластите (Сл. 6.5). Тој ензим е **протохлорофилидната оксидо-редуктаза (POR)**. За неа се врзуваат протохлорофидот и коензимот NADPH, така што активниот ензим всушност е **NADPH-протохлорофилид-оксидо-редуктаза (POR)**, а целиот комплекс се вика **протохлорофилид-холохром**. Во тој комплекс протохлорофилидот ја апсорбира светлината, а со тоа се овозможува редукција на прстенот IV со помош на NADPH, со што се добива **хлорофилид а**. Потоа, ова соединението се одвојува од комплексот, а протеинот најверојатно се деградира. Потоа, последната слободна киселинска група го естерифицира фитол пиропфосфатот, при што се добива **хлорофил а** (Сл. 6.5).

Кај некои растителни видови на темно се јавува уште еден потенцијален прекурсор на хлорофилот. Тоа се случува кога мало количество од протохлорофилидот не се врзува фитол, туку за неговиот прекурсор геранил-геранил пиропфосфат (од кого во врзана форма се синтетизира фитол), при што се добива **протохлорофил а**. Протохлорофилот а е естерифициран, но, не е редуциран.

При осветлување на растението, протохлорофилот се деестрифицира и се враќа во форма на протохлорофилид **a**, а потоа преминува во хлорофил **a**. Постои мислење дека хлорофилот **b** се добива од хлорофилот **a** со помош на една **оксигеназа**, која користејќи го кислородот од воздухот ја оксидира метил групата на C-7 атомот во формил група. Треба да се нагласи дека хлорофилите **a** и **b** не остануваат слободни, туку се врзуваат за посебни протеини и прават комплексни глобули во тилакоидната мембрана.

6.4.1.3 Биогенеза на хлоропласти на светло и на темно

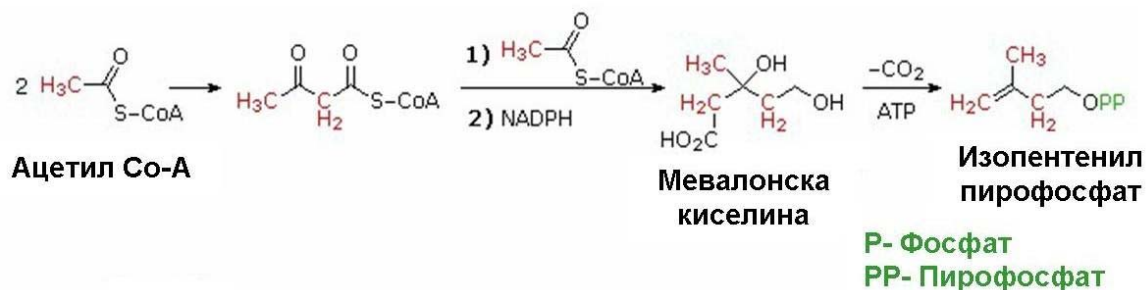
Растенијата кои растат на темно по својот изглед се разликуваат од оние кои растат во присуство на светлина. Имено, тие немаат зелена боја и се издолжени, а се познати како **етиолирани растенија**. Но, помеѓу етиолираните и зелените растенија постојат и други морфолошки и физиолошки разлики. Озеленувањето на етиолираните растенија не е процес кој се состои само во синтеза на пигменти, туку опфаќа и радикална реорганизација и *de novo* синтеза на многу клеточни компоненти.

Во раната фаза од развитокот на листот, пластидите имаат изглед на мали кружни телца со дијаметар од околу 1 μm и се наречени **пропластиди**. Овие телца имаат двојна надворешна мембрана, но имаат и многу слабо развиен внатрешен ламеларен систем. Меѓутоа, со растење на клетките растат и пропластидите, така што во нив постепено се формира системот на грана и интерграналните ламели. Овие структури се јавуваат само ако растението расте на светло. Кај растенијата, што растат во услови на темно, пропластидите се зголемуваат и достигнуваат големина на хлоропласт, но наместо тилакоиди тие формираат перфорирани примарни ламели и ваквиот пластид е познат под името **етиопласт**. Тој содржи карактеристично **проламеларно тело**, кое претставува паракристална решетка составена од тубули, доминантни се липидите (моно- и ди-галактолипиди и фосфолипиди) и ензимот **протохлорофилид-NADPH-оксидоредуктаза (POR)**. Етиопластите ја менуваат својата структура кога ќе се осветлат. Светлината ја апсорбира протохлорофилидот, а POR врши редукција на прстенот IV за што донор на протони е NADPH. Така се создава хлорофилид **a**, кој се естерифицира бидејќи ензимот хлорофилна синтетаза е присутен во проламеларното тело. Истовремено со редукција на протохлорофилидот започнува распаѓањето на проламеларното тело и прво се формираат поединечни тилакоиди, а потоа и типичен мембрански систем. На пр., кај лист од јачмен за целосно преминување на етиопластите во хлоропласти потребни се околу 20 часа.

Постојат и други процеси, кои се контролирани од светлината. Така на пример за синтеза на 5-аминолевулинската киселина е потребна светлина. Акцептор на светлина во овој процес е пигментот фитохром, кој е активен во текот на фотоморфогенетските процеси кај сите зелени растенија. Во присуство на светлина се зголемува синтезата на рибонуклеинските киселини и многу протеини. Меѓу овие протеини се вбројуваат и оние што се врзуваат за хлорофилот пред вградување во мембраната, потоа ензимите кои ги катализираат клучните реакции во фотосинтезата, како што е дел од молекулот на рибулоза-1,5-бифосфат карбоксилаза (ензим кој го вградува CO_2 во органските соединенија). Сите фотохемиски активности на мембраната се интензивираат паралелно со зголемување на концентрацијата на хлорофил биле забележани во присуство на светлина за време од 2.5 часа (Plesničar и Bendall, 1973). Исто така, на светло е стимулирана и синтезата на липиди, бидејќи на темно недостасуваат некои липидни компоненти на мембраната. Каротеноидите може да се синтетизираат и на темно, но, нивната синтеза на светло е значително поголема и побрза.

6.4.2 Каротеноиди

Каротеноидите се група пигменти што се наоѓаат во хлоропластите и хромопластите. Во првиот случај тие учествуваат во фотосинтезата, а во вториот ја даваат жолта, портокалова или црвена боја на разни цветови, плодови и на други делови од растенијата.

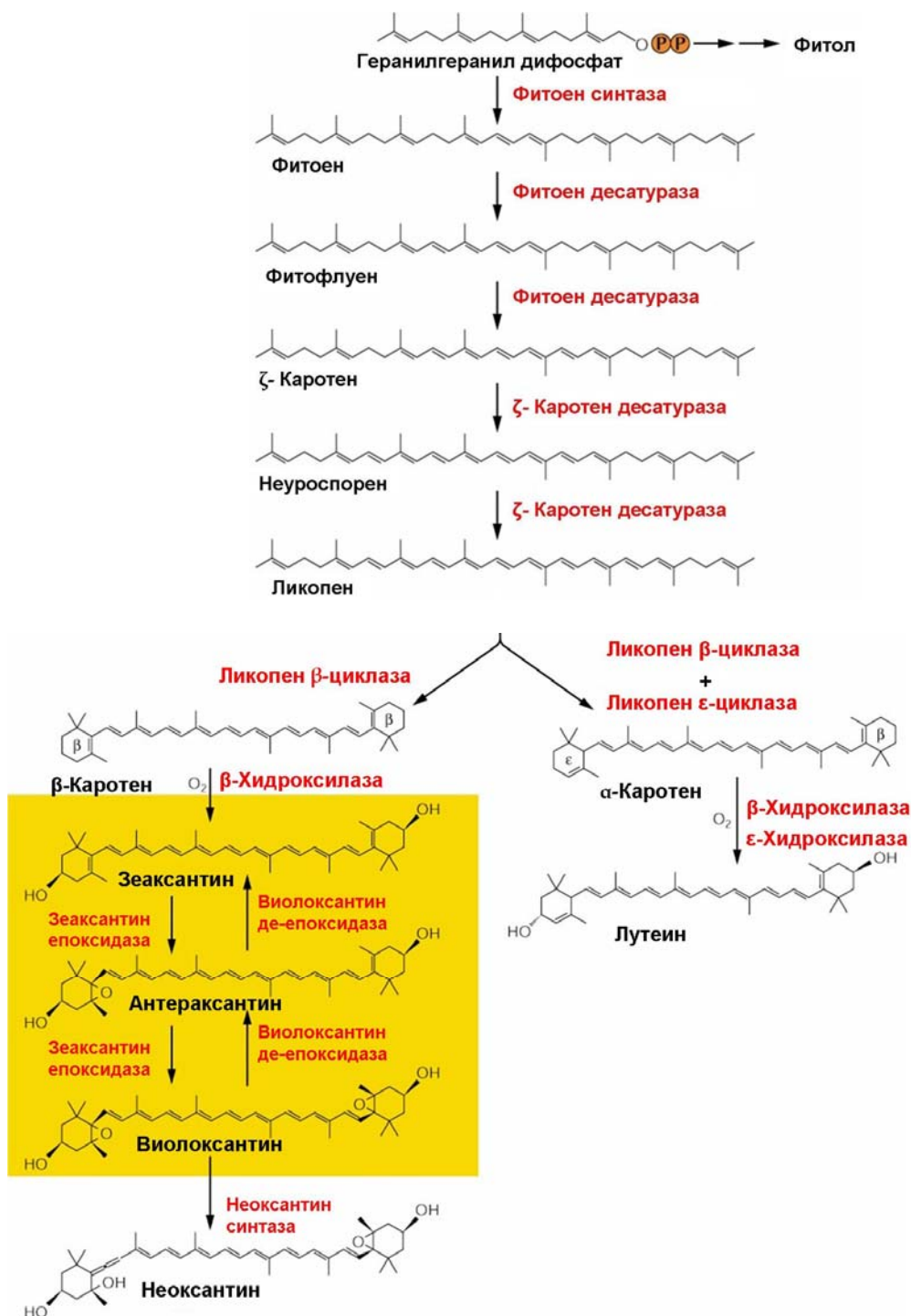


Сл. 6.6 Почетен степен во биосинтезата на каротеноидите.

Каротеноидите спаѓаат во групата на изопреноидни соединенија, кои името го добиле по основната заедничка структурна единица **изопрен** (Сл. 6.6). Изопренскиот фрагмент (C_5H_8) не постои слободен, туку како 5-јаглероден сегмент **изопентенил-пирофосфат (IPP)** се вградува во овие соединенија. IPP настанува во цитоплазмата и хлоропластите на различни начини. Во цитоплазмата, со кондензација на 3 молекули ацетил-СоА се добива **мевалонска киселина**, која со помош на 3 АТР се фосфорилира и декарбоксира, при што се добива **IPP**. Во хлоропластите, под дејство на транскетолазата се кондензира двокарбонскиот остаток на еден пируват со 3-глицералдехид фосфатот, при што директно се добива едно соединение со 5 С атоми, кое претставува прекурсор на IPP. Одреден број на молекули од IPP преминуваат во својот изомер, **3,3-диметилалил-пирофосфат (DMAPP)**. IPP и DMAPP се **хемитерпени** од кои се добива гасот **изопрен**, што се излучува од листовите во атмосферата. Синтезата на изопреноидите започнува со кондензација на IPP и DMAPP (по принцип на врзување на “глава” - разгранет дел со “крај” - фосфорилиран дел), при што се добива **геранил-пирофосфат (GPP)**, **монотерпен** со 10 С атоми. Сите други изопреноидни соединенија се создаваат со продолжување на синџирот преку додавање на нови молекули на IPP по принципот на поврзување “глава” со “крај”, познат како **биогено изопренско правило**. Додавањето IPP на постојниот синџир се врши со помош на ензимот **пренилтрансфераза**. Така, со додавање на молекул на IPP на GPP се добива соединение со 15 С атоми, **фарнезил-пирофосфат (FPP)**, а со додавање на уште еден молекул на IPP се добива **геранил-геранил-пирофосфат (GGPP)** кој содржи 20 С атоми. Од FPP со циклизација се добиват многу соединенија со 15 С атоми познати како **сесквитерпени**, меѓу кои најпознат е хормонот **абсцисинската киселина (ABA)**. Од GGPP се добиваат **дитерпени**, во кои спаѓаат хормоните **гиберелини**. Исто така, од 2 молекула на FPP се добива **скален**, а од него се добиваат различни **тритерпени**, меѓу кои спаѓаат и **стероидите**.

6.4.2.1 Биосинтеза и функција на каротеноидите

Со димеризација на GGPP се добиваат **тетратерпени**, меѓу кои се вбројува и **фитоенот**, кој е непосреден прекурсор на каротеноидите (Сл. 6.7). Каротеноидите на едниот или на двата краја од синцирот циклизираат при што се формира **јонски прстен**. Каротеноидите се делат на две групи: **каротени**, кои се состојат само од С и Н атоми, а со врзување на хидроксилна група (ОН) се добиваат **ксантофили** кои се состојат од С, Н и О.



Сл. 6.7 Биосинтеза на некои каротени и ксантофили (Buchanan и сор., 2002).

Каротеноидите се наоѓаат во сите фотосинтетски организми. Кај вишите растенија најважни каротеноиди се **β -каротенот** и ксантофилите **лутеин**, **виолаксантин**, **антераксантин** и **зеаксантин**. Кај кафеавите алги присутен е ксантофилот **фукоксантин**.

Каротеноидите кои се наоѓаат во хлоропластите учествуваат во апсорпција на светлината што се користи во процесот фотосинтеза, но имаат и други функции. Така на пр., кога листот е изложен на светлина со висок интензитет тогаш количеството на апсорбирана енергија е поголема од онаа што може да се искористи при фотосинтезата. Вишокот на енергија е многу штетен за фотосинтетскиот апарат и каротеноидите имаат значајна улога во “гасење” на оваа енергија. Познати се мутанти на некои алги и бактерии што немаат каротени и на светло тие бргу го губат хлорофилот, а како резултат на тоа немаат способност за автотрофен начин на живот. Всушност, тие можат да живеат аеробно на темно или без O_2 на светло, но, во присуството на O_2 и светлина, хлорофилот се деградира.

Каротеноидите имаат и други важни функции во растението, како што е апсорпција на светлина која предизвикува локомоторни движења, фототаксии. Исто така, тие учествуваат и во пренесување на други светлосни сигнали, на пример, во фототропизмот и други појави. Бојата на многу цветови и плодови доаѓа од присуството на каротеноидите, а тоа има значење за полинацијата, размножувањето и друго.

6.4.3 Фикобилини

Фикобилините се пигменти кои се наоѓаат само модрозелените и црвените алги. Овие пигменти се растворливи во вода и се состојат од протеин и протетична група, која е хромофор (носител на боја). Протеинскиот дел е изграден од два пептидни синцири (алфа и бета), со молекулска маса 19000, односно 20000 D. За протеинот, ковалентно се сврзани 1-2 молекули од хромофорот. Хромофорите се **фикобилини**, соединенија од четири пиролови прстени поврзани во отворен синцир, кој се добива од **протопорфиринот IX**.

Најпознати фикобилини се: **фикоцијани** со синозелена боја присутни кај *Cyanobacteria* и **фикоеритрини** со црвена боја застапени кај *Rhodophyta*. Двете групи на алги содржат и **алофикоцијанин**.

Фикобилипротеините се наоѓаат во посебни глобули, кои се викаат **фикобилизоми** и се поврзани од надворешната страна на тилакоидната мембрана.

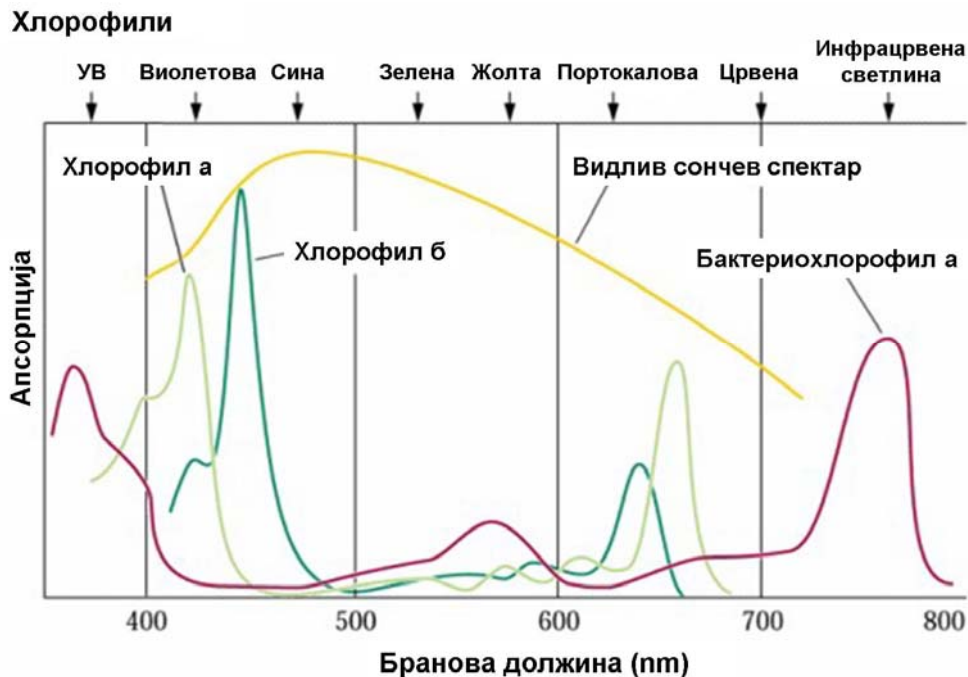
6.5 Апсорпција на светлината

Видливата светлина е дел од електромагнетното зрачење што опфаќа бранова должина од 390-720 nm, кое е видно за човековото око. Така на пр., ултравиолетовото зрачење (320-390 nm) има влијание врз некои движења кај растенијата, а некои бактерии може да ја користат инфрацрвената светлина (од 1000 nm) во фотосинтезата. Електромагнетното зрачење се карактеризира со бранова должина (λ), фреквенција и енергија. Ако брановата должина е поголема (помала фреквенцијата), тогаш опаѓа енергијата што ја носи еден квант на светлина (фотон). Електромагнетните зрачења може да дејствуваат на структурата од молекулите кои ги апсорбираат. γ -зраците, X-зраците и кратките UV зраци имаат висока енергија и влијаат на врските помеѓу честичките кои ги градат атомските јадра. Поради тоа, доаѓа до промени и распаѓање на органските материи што се изложени на овие зрачења. Зрачењата со кратка бранова должина може да предизвикаат промени во структурата кај нуклеинските киселини и протеините кои

се многу штетни за живите организми, а често пати дури и смртоносни. Меѓутоа, зраците од видливиот дел на спектарот немаат доволно енергија за да предизвикаат иреверзибилно оштетување на органските соединенија. Овие зраци се апсорбираат во надворешната електронска обвивка од молекулата на пигментите во која влегуваат надворешните или **валентни електрони**. Имено, електроните што припаѓаат на едно атомско јадро се викаат **п-електрони**, а оние што се заеднички за две јадра и градат врска помеѓу нив, може да бидат **σ-електрони** или **π-електрони**.

6.5.1 Апсорпциони спектри на пигментите

Фотосинтетските пигменти апсорбираат светлина со одредена бранова должина и поради тоа имаат боја на пропуштената или одбиената светлина. Апсорпционите спектри на пигментите претставуваат функција од зависноста помеѓу брановата должина и апсорпцијата. Сите хлорофили имаат две зони на апсорпција, едната е во синиот, а другата во црвениот дел од спектарот, но максималната апсорпција на брановите должини е различна. Така на пр., хлорофилот **a** во етерски раствор апсорбира светлина на 430 и 663 nm, а хлорофилот **b** на 450 и 643 nm (Сл. 6.8). Каротеноидите апсорбираат само во виолетовиот и синиот дел од спектарот и за нив е карактеристичен спектар со два или три врвови. β-каротенот има максимална апсорпција на 420 nm и врвови на 460 и 480 nm. Фукоксантинот, ксантофил кој се наоѓа кај кафеавите алги апсорбира светлина во сино-зелениот дел од спектарот до 500 nm. Фикобилините апсорбираат светлина помеѓу зелениот и црвениот дел од спектарот и тоа фикоцијанот помеѓу 500 и 618 nm, а фикоеритринот од 450 до 576 nm (Сл. 6.8). Поради тоа што сите фотосинтетски организми имаат повеќе од еден пигмент, јасно е дека вкупната апсорпција на листот или клетката кај алгите претставува збир од апсорпциите на сите присутни пигменти. Разновидноста на пигментните системи кај растенијата овозможува да искористат поголем дел од светлосното зрачење при фотосинтезата.

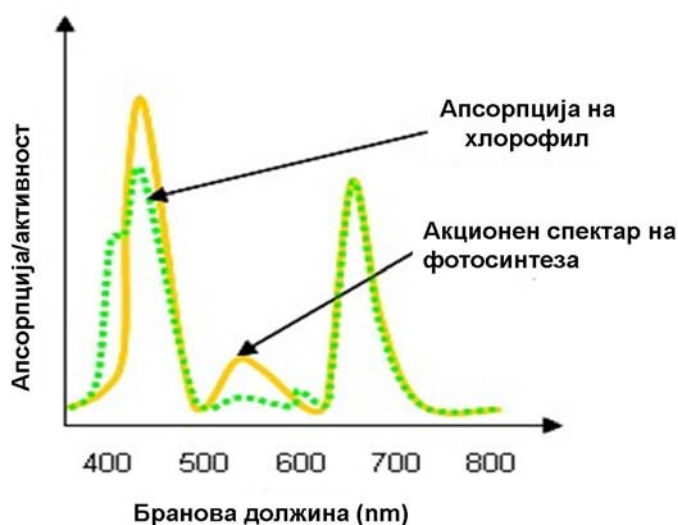


Сл. 6.8 Апсорпциони спектри на фотосинтетските пигменти.

6.5.2 Акциони спектри на фотосинтезата

Посебно значење во сите физиолошки процеси во кои учествува светлината има акциониот спектар на светлината. Акционите спектри се мерат на следниот начин: растенијата се осветлуваат со монохроматска светлина со различна бранова должина која постепено се зголемува (410, 420, 430 ... 680, 690, 700 nm), потоа при секое осветлување се одредува интензитетот на фотосинтезата преку мерење на некој параметар (пр., количество на ослободениот O_2) и на крај акциониот спектар се претставува графички како интензитет на процесот (количество на O_2) во функција на брановата должина.

Во секој физиолошки процес, активна може да биде само онаа светлина која е апсорбирана. Поради тоа, акционите спектри мора да кореспондираат (совпаѓаат, поклопуваат) со апсорпционите спектри на пигментите. Кореспонденцијата на овие спектри претставува индикација за тоа кои пигменти во дадениот процес имаат улога на рецептор. Вкупните **апсорпциони спектри** на листот или на клетката на алгата се совпаѓаат со **акциониот спектар** на фотосинтезата (Сл. 6.9). Постојат само две зони во кои совпаѓањето не е целосно. Првата зона се наоѓа во синиот дел од спектарот (околу 480 nm), каде што апсорпцијата е поголема од активноста. Во оваа зона каротеноидите имаат максимална апсорпција, а тоа всушност покажува дека светлината што ја апсорбираат овие пигменти не е целосно искористена при фотосинтезата. Втората зона се наоѓа во црвениот дел од спектарот (околу 700 nm). Оваа светлина можат да ја апсорбираат само некои молекули од хлорофилот **a** и акциониот спектар покажува дека само оваа апсорпција не е доволна за одвивање на процесот на фотосинтеза.



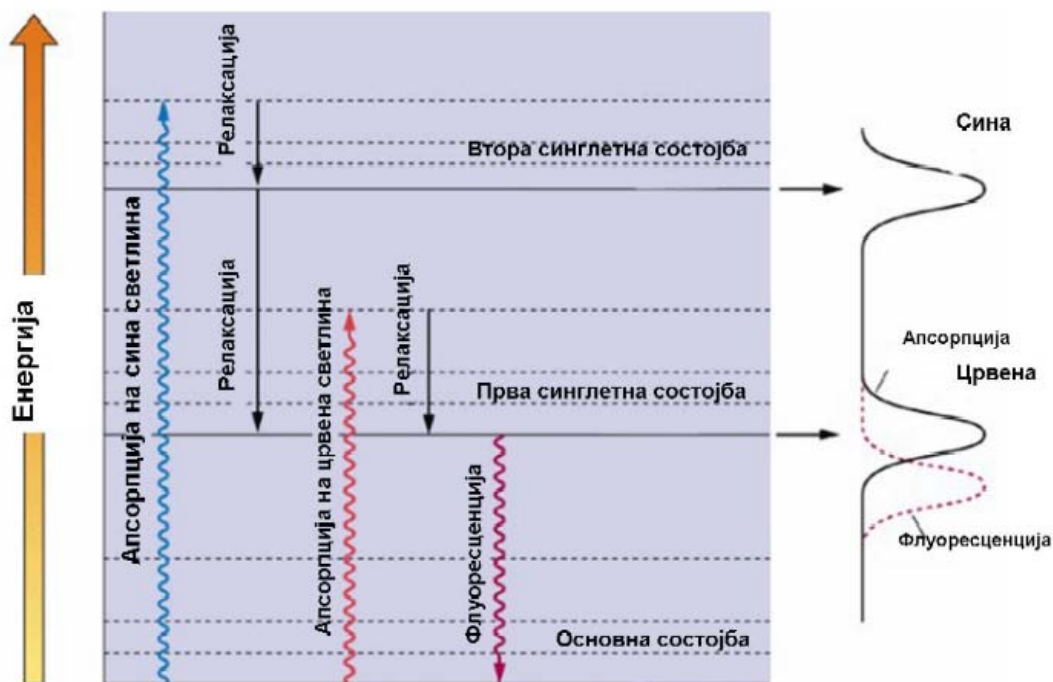
Сл. 6.9 Вкупен апсорпционен спектар (испрекината линија) и акционен спектар на фотосинтезата (полна линија).

Присуството на различни пигменти кај растенијата овозможува нивно приспособување да живеат и во некои специфични услови во надворешната средина. На местата каде живеат некои растенијата, сите зраци од белата сончева светлина не се подеднакво присутни. Така на пр., во морската вода само површинските слоеви имаат достапна полна бела светлина. Поради тоа, тука најчесто живеат зелените алги кои имаат хлорофил и каротеноиди, со кои го користат синиот и црвениот дел од спектарот. Во подлабоките делови на водата, овие спектри не се присутни и затоа таму се јавуваат кафеавите алги, кај кои пигментот фукоксантин овозможува апсорпција на сино-зелената светлина што ја пропуштаат

површинските слоеви на водата. На поголемите длабочини до кои главно допираат зелената, жолтата и портокаловата светлина живеат црвените алги, кои благодарение на присуството на фикобилинот (фикоеритрин) можат да го користат овој дел од спектарот на светлината. Оваа појава е позната како **комплементарна хроматична адаптација**. Имено, растенијата се адаптираат во однос на средината на тој начин што синтетизираат пигменти чија боја е комплементарна со бојата од достапната светлина. Така на пр., ако некои сино-зелени алги се одгледуваат на зелена светлина имаат повеќе фикоеритрин, а на црвена светлина имаат повеќе фикоцијанин. Кај вишите растенија, појавата на хроматична адаптација се забележува во односот на хлорофилот **a** спрема хлорофилот **b**. Така на пр., кај растенијата кои добро се осветлени тој однос е 3:1, а кај растенија кои живеат во сенка, количеството на хлорофил **b** е зголемено. На тој начин, растенијата од долните катови во шумските заедници подобро ја користат светлината што ја пропуштаат крошните на големите дрва.

6.5.3 Физички појави при апсорпција на светлината

Електроните кои ја сочинуваат надворешната обвивка на молекулот се врзани за своите орбити и на нормална биолошка температура се наоѓаат на најниско енергетско ниво, односно во **основна состојба**. Електронот чија енергија се зголемува со примање на квант светлина (фотон), преминува во својата следна орбита, што одговара на зголемената енергија. Оваа состојба се вика **ексцитирана** или **возбудена** состојба на молекулот. Молекулите апсорбираат зраци со одредена бранова должина односно енергија, кои се во состојба да предизвикаат електронски премин од основната во ексцитирана состојба (Сл. 6.10).



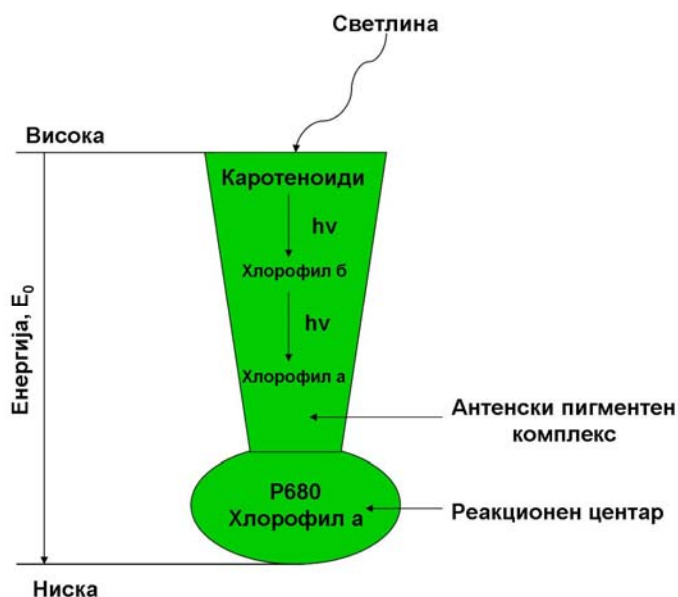
Сл. 6.10 Ексцитација на хлорофил при апсорпција на сина и црвена светлина. Паралелните линии ги претставуваат вибрационите нивоа на електронските орбити. При апсорпција на сина светлина доаѓа до премин на електроните од основната во втората ексцитирана состојба (втора синглетна состојба), додека при апсорпција на црвена светлина се овозможува премин на електроните во првата ексцитирана состојба (прва синглетна состојба). Деекситација (релаксација) претставува враќање на електроните во основната состојба при што апсорбираната енергија се ослободува во форма на топлина или како флуоресценција (Buchanan и сор., 2002).

Во молекулите со сложена структура како што се хлорофилите, секоја енергетска орбита има неколку блиски енергетски состојби или **вибрациони нивоа**. Во молекулот на хлорофилот постојат две можни орбити на ексцитирана состојба: повисока орбита која одговара на енергијата од фотоните на сината светлина и пониска орбита која одговара на фотоните на црвената светлина. Поради тоа, максималната апсорпција на хлорофилот се наоѓа во синиот и црвениот дел од спектарот на светлината т.е. апсорпцијата на оваа светлина предизвикува ексцитирана состојба на хлорофилот. Ексцитираната состојба на молекулот е многу нестабилна, краткотрајна и бргу доаѓа до деексцитација, а притоа молекулот на хлорофилот се ослободува од примената енергија и се враќа во основната состојба. Постојат различни патишта на деексцитација: флуоресценција, фосфоресценција, индуцирана резонанција и губење на електрони.

Ако хлорофилот апсорбира сина или црвена светлина, возбудениот електрон секогаш се наоѓа на иста орбита. Во тој временски период на ексцитација, електронот паѓа на најниско вибрационо ниво од истата орбита, а при тоа малиот вишок на енергија се губи како топлина. Потоа може да дојде до целосна деексцитација, кога електронот ќе се врати на основната орбита. Енергијата што се ослободува при деексцитација повторно се емитира како квант светлина и таа светлосна емисија е позната како **флуоресценција**. Во овој случај, хлорофилниот молекул прво апсорбирал, а потоа емитирал светлина. Поради преминување на пониско вибрационо ниво во рамките на орбитата при ексцитирана состојба на електронот, одредено количество на апсорбираната енергија се губи како топлина. Според тоа, брановата должина на флуоресцентната светлина секогаш е поголема од апсорбираната. Така на пр., хлорофилот а во етерски раствор апсорбира светлина на 430 и 665 nm, а флуоресцира на 680 nm. Деексцитација на електронот може да настане и преку промена на спинот (насока на ротација) на ексцитираниот електрон. Кога електронот го менува спинот и се враќа во основната орбита, тогаш вишокот на енергија повторно се емитира како фотон и оваа појава е позната како **фосфоресценција**. Исто така, при деексцитација може да дојде до пренесување на енергијата од еден молекул на пигментот на друг. Така на пр., флуоресцентната светлина од еден молекул може да ја апсорбира друг молекул. Појавата кога квант енергија се пренесува од еден молекул на друг се вика **индуцирана резонанција** и има големо значење за примарните процеси на фотосинтезата. На ваков начин, апсорбираната енергија може во вид на **ексцитон** да се пренесе на поголем број пигментни молекули. Меѓутоа, енергијата секогаш е канализирана кон молекулите кои апсорбираат светлина со најголема бранова должина (Сл. 6.11).

Сите три опишани начини на деексцитација се добро познати физички појави, што се сретнуваат во текот на фотосинтетскиот процес, но тие не се начин на кој светлосната енергија се користи во процесот на фотосинтеза. При овие појави, светлината се апсорбира и потоа веднаш повторно се емитира, но состојбата во која се наоѓаат молекулите на пигментите не се менува. Тоа значи дека фотосинтезата започнува во моментот кога ексцитираниот молекул на хлорофилот губи еден електрон кој се нашол на орбитата со поголема енергија. За да се случи ова, во близина на ексцитираниот хлорофил потребно е да постои некое соединение кое може да го прими тој електрон, односно акцептор на електрони. Притоа, хлорофилот се оксидира и останува позитивно наелектризиран, а акцепторот се редуцира. Во молекулот на хлорофилот останува електронска празнина и хлорофилот прима електрон од трето соединение, кое претставува донор. Редукцијата на некое соединение не е физичка, туку фотохемиска појава. Таа е прва оксидо-редукциска реакција со која започнува фотохемиската фаза на фотосинтезата. Светлосната енергија која овозможила хлорофилот да се најде во

ексцитирана состојба и која е претворена во редукционен еквивалент, претставува иницијална енергија која подоцна ги поттикнува сите фотосинтетски реакции.



Сл. 6.11 Пренесување на ексцитоните по пат на индуцирана резонанција во комплексот на пигменти поврзани со протеински носачи. Ексцитоните секогаш се пренесуваат од еден молекул на друг во насока на пигментите кои апсорбираат помала енергија (светлина со поголема бранова должина). Во антена комплексот II, ексцитоните можат да преминуваат од каротеноидите на хлорофил б, потоа на хлорофил а и на крај се задржуваат во реакциониот центар на хлорофил а, кој апсорбира фотон со најголема бранова должина.

6.6 Фотосистеми и пренесувачи на електрони

Сите процеси што се поттикнути од светлината се одвиваат во системот на фотосинтетските мембрани и затоа неопходно е познавањето на мембранската структура и организација. Главни составни делови во липидниот матрикс на тилакоидната мембрана се полипептидните комплекси за кои се врзани фотосинтетските пигменти, како и акцептори и донори на електрони. Освен овие комплекси постојат и асоцирани протеини на надворешната и внатрешната страна од тилакоидите, како и мали мобилни молекули кои одржуваат врска помеѓу крупните неподвижни глобули. Сите фотосинтетски организми имаат по 4 или 5 супрамолекулски комплекси, кои се гледаат како глобули на тилакоидната мембрана. Тие се:

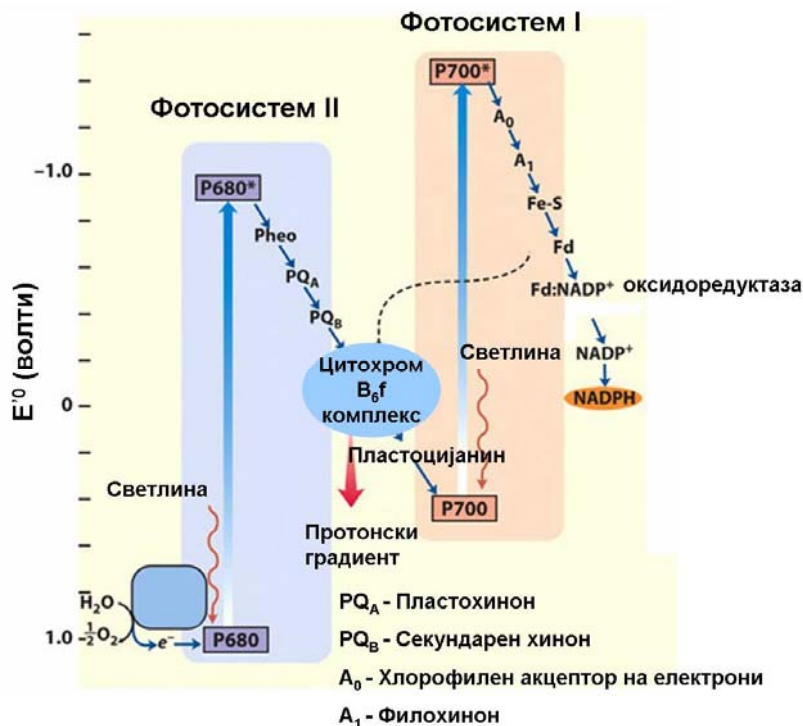
- фотосистем I;
- фотосистем II;
- комплекс на цитохромите b_6f или bc_1 ;
- комплекс на протеини и пигменти кои апсорбираат светлина;
- синтеза на аденозин трифосфат (реверзна АТРаза).

Фотосинтетските бактерии имаат само еден фотосистем. Цитохромскиот комплекс b_6f се наоѓа кај зелените растенија, а bc_1 кај фотосинтетските бактерии. Фотосистемот опфаќа специјални молекули на хлорофил а, бактерохлорофил а (ретко бактродхлорофил б), како и примарни акцептори на електрони. Специјални молекули од хлорофилот а имаат способност да изгубат електрон и да почне процесот фотосинтеза. Тие го претставуваат **реакциониот центар** на фотосистемот. Сите други молекули на хлорофилот а, другите хлорофили, каротеноиди и

фикобилини се означени како **помошни пигменти**, кои влегуваат во состав на комплексите што ја апсорбираат светлината.

6.6.1 Фотосистем I (PSI)

Збирот на протеини и пигменти, чиј реакционен центар **P700** апсорбира светлина со бранова должина од 700 nm се вика **фотосистем I** (PSI = Photosystem I). Неговата главна функција се состои во **редукција на фередоксинот** и **оксидација на пластоцијанинот** (Сл. 6.12). Фотосистемот I е сместен само во тилакоидите на стромата и во деловите на мембраните на граната кои се во контакт со стромата.



Сл. 6.12 Z-схема, нецикличен линеарен транспорт на електрони претставен во однос на редокс потенцијалот на пренесувачите. Екситираниот P 680 претставува силен оксиданс кој ја оксидира водата, а екситираниот P 700 е силен редуктант кој го редуктира фередоксинот (Buchanan и сор., 2002).

Целиот комплекс I (PSI холокомплекс) може да се подели на **јадро PSI** и на **антена-пигменти I**. Јадрото PSI опфаќа 7 полипептиди, кои се обележани како IA, IB, II-VI. Полипептидите IA и IB (82-83 kD) го носат **рационалниот центар** и **примарните акцептори на електрони**. Реакциониот центар се состои од две молекули на хлорофил а кои формираат димер и при апсорпција на светлина од 700 nm ја губат бојата (побелуваат). За полипептидите IA и IB се поврзани уште 100 молекули од хлорофилот а кои имаат помошна функција, како и 16 каротеноиди кои го штитат хлорофилот од фотооксидација.

Акцептори за електрони се неколку соединенија кои сукцесивно примаат електрон од P700. Овие соединенија се означени со посебни симболи, бидејќи нивниот идентитет не е целосно утврден. Порано целиот овај акцепторски збир бил означен со буквата "X", но денес се знае дека го сочинуваат следните компоненти:

- A_0 за кој се претпоставува дека е посебен мономерен молекул на хлорофилот а;
- A_1 кој најверојатно е витамин K_1 со хинонска структура (филохинон);

- F_x е фери-сулфурен центар кој содржи $4Fe - 4S$ група поврзана за посебен полипептид;
- F_A и F_B (порано наречен P430) претставуваат уште две феросулфурни групи со по 4 атома на Fe и S.

Фотосистемот I опфаќа и неколку полипептиди кои припаѓаат на комплексот антена-пигменти (**LHCI** = **light harvesting complex I**), кој содржи околу 100 молекули на хлорофил b и β -каротен; односот на хлорофилот a:b е 3.7:1.

PSI на стромалната страна има место за кое се врзува **фередоксинот (Fd)**, а како асоциран протеин врзан е флавински ензим **фередоксин-NADP-оксидоредуктаза (FNR)**. На луминалната страна е местото за врзување на **пластоцијанинот**.

6.6.2 Фотосистем II (PSII)

Фотосистемот II (PSII) е комплекс чиј реакционен центар апсорбира светлина со максимална бранова должина од 680 nm и поради тоа се вика **P680** (Ghanotakis и Yocum, 1990). Главната функција на PSII е **оксидација на водата и редукција на пластохинонот**. Фотосистемот II е сместен во деловите на тилакоидот кои се збиени во граните. Поради тоа, аграналните тилакоиди кај C_4 растенијата, како и сите други што имаат слабо развиена грана содржат малку глобули PSII.

Фотосистемот II содржи повеќе интегрирани и асоцирани протеини, а може да се подели на **јадро PSII** и **антена-пигменти II**. Јадрото се состои од најмалку 6 полипептиди. Два полипептида (32 и 30 kD) се означени како **D1** и **D2** и носат **реакционен центар**. Фотосистемот P680 содржи четири молекули хлорофил, од кои две градат димер што се фотооксида. За полипептидите D1 и D2 се поврзани примарните акцептори на електрони и на нив се наоѓаат локуси со посебни функции. Акцепторите на електрони и посебните локуси се:

- **феофитин а** (Feo a), две молекули; феофитинот е дериват на хлорофилот, односно хлорофил без Mg во центарот на порфириинскиот прстен, а наместо Mg содржи 2 водороди;
- **Q_A и Q_B** се две сродни хинонски соединенија;
- локус кој носи посебен остаток од **тирозин** (Tyrz), кој е непосреден донор на електрони за P680;
- локус за кој се врзуваат некои **хербициди**;
- еден молекул на **β -каротен** и **не-хемско железо**, чија функција не е сосема позната;
- **цитохром b_{559}** кој е поврзан за посебен полипептид и е составен дел на јадрото PSII; неговата функција не е точно утврдена.

Посебните полипептиди кои се составен дел на PSII содржат 20-25 молекули на хлорофил a и b кои служат како **антена-пигменти II**. Меѓутоа, најголем дел од антена-пигменти II е поврзан за други протеини опишани како посебна глобула **LHCII**. Три асоцирани полипептиди (18, 23 и 33 kD) во луменот на тилакоидите прават **комплекс кој ја оксидира водата и ослободува O_2** . Овој комплекс е поврзан за PSII кому му предава електрон од водата.

6.6.3 Цитохромски комплекси b_6f и bc_1

Сите фотосинтетски организми во тилакоидната мембрана имаат комплекс кој содржи два цитохроми b, еден цитохром од групата c и еден фери-сулфурен центар. Овој комплекс е многу сличен на комплексот b/c цитохроми од мембраната на митохондриите. Во хлоропластот, овој комплекс има функција да ги поврзе PSI и PSII, со тоа што го оксидира пластохинонот, а го редуцира пластоцијанинот. Покрај

тоа, овој комплекс ги пренесува протоните од надворешната на внатрешната страна од тилакоидот. Цитохромскиот комплекс е рамномерно распореден во сите мембрани во хлоропластот. Изолираниот цитохромски комплекс содржи 4 полипептиди. Во хлоропластите, за овие полипептиди се поврзани два цитохрома b_6 , цитохром f кој припаѓа на групата од цитохромите c (*frons* = лист, лат.), како и Rieske-ов феро-сулфурен центар ($2Fe-2S$) (по авторот кој го открил). Полипептидите од цитохромскиот комплекс содржат рецептори за кои се врзуваат два пластохинона кои се оксидираат и ги предаваат електроните на цитохромите.

6.6.4 Комплекс од протеини и пигменти кои апсорбираат светлина (LHCII)

Во фотосистемот II, освен антена-пигменти, постои и еден посебен комплекс познат како **комплекс II** или **a/b антена-пигменти** со кратенката **LHCII** (=light harvesting complex II). Комплексот LHCII, освен протеини содржи хлорофил a и b , но и ксантофили, кои учествуваат во апсорпцијата на светлината. Овој комплекс има три функции:

- апсорпција на светлосната енергија што се користи при фотосинтеза;
- контрола на распределбата на апсорбираната светлина помеѓу PSI и PSII;
- придонес во адхезијата на тилакоидите во рамките на еден гранум.

Кај растенијата кои растат на слаба светлина овај комплекс е многу добро развиен што претставува нивна адаптација за подобро искористување на светлината. Кај вишите растенија LHCII комплексот има 200-300, а кај некои алги и неколку илјади молекули на хлорофил на еден реакционен центар.

6.6.5 Фикобилизоми и хлорозоми

Кај црвените и модно-зелените алги постои комплекс антена-пигменти кој не е составен дел на мембраната. Тој се наоѓа во посебни тела кои се викаат **фикобилизоми**. Кај црвените алги, тие се поврзани за надворешната страна од тилакоидите, а кај модно-зелените алги се поврзани за плазматичната страна на фотосинтетската мембрана. Фикобилизомите имаат два дела. Во првиот дел, протеините се цврсто врзани за мембраната и за нив е поврзан **алофикоцијанинот**. Вториот дел има форма на периферни стапчиња со протеини за кои ковалентно се поврзани **фикоцијанинот** и **фикоеритринот**. Така на пр., околу 400 молекули фикобилини се наоѓаат на еден фикобилизом кој ја пренесува апсорбираната енергија на пигментите во PSII.

Хлорозомите се наоѓаат надвор од мембраната и се присутни кај зелените фотосинтетски бактерии (*Chlorobium*), а содржат помошни пигменти бактериохлорфил c , d или e .

6.6.6 Мобилни пренесувачи на електрони

Мобилните пренесувачи на електрони се: **фередоксинот**, **пластохинонот** и **пластоцијанинот**.

Фередоксинот е протеин со молекулска маса 7-12 kD, кој содржи феро-сулфурен центар $2Fe-2S$ (Arnon, 1988). Со помош на ензимот **фередоксин-NADP-редуктаза (FNR)**, фередоксинот во процесот на фотосинтеза го редуцира NADP, а може да го редуцира и пластохинонот. Исто така, тој ги редуцира и неорганските акцептори на електрони: кислород, сулфат, нитрит, азот, водород, како и протеинот тиоредоксин. Фередоксинот е хидрофилен и се движи по стромалната страна на тилакоидната мембрана.

Меѓу PSII и цитохромскиот комплекс се наоѓа група од околу 40 подвижни **пластохинони (PQ)**. Тие се хидрофобни, растворливи во липиди и се движат во латерален и вертикален правец низ липофилниот среден дел од мембраната. Пластохинонот (PQ) при редукција прима два електрона и два протона и преминува во пластокинол (PQH₂).

Полипептидите IA/IB во фотосистемот I, на луминалната страна од тилакоидот имаат рецепторско место за **пластоцијанин**. Пластоцијанинот е хидрофилен подвижен протеин кој ја одржува врската помеѓу комплексот цитохром b₆f и PSI. Пластоцијанинот содржи два атома на бакар и затоа има сина боја.

6.6.7 Фотосистеми кај бактериите

Поголем дел од фотосинтетските бактерии се анаеробни, но и оние што се факултативни аеробни во процесот на фотосинтеза не произведуваат кислород, па поради тоа се викаат **аноксигени**. Фотосинтетските бактерии содржат само еден фотосистем. Постојат две групи на фотосинтетски бактерии:

- зелени бактерии (Chlorobiaceae) со фотосистем кој е многу сличен на PSI;
- пурпурни бактерии (Rhodospirillaceae) чиј фотосистем наликува на PSII.

6.7 Фотосинтетски транспорт на електрони

Во текот на фотосинтезата се разликуваат процеси што зависат од апсорпцијата на светлосната енергија, процеси во кои таа енергија се користи, како и процеси кои се одвиваат на темно. Врз база на овие процеси, фотосинтезата е поделена на **светла фаза** и **темна фаза**. Во светлата фаза постојат само две реакции во кои учествува светлината, а за другите не е директно потребна светлина. Меѓутоа, тие две реакции се есенцијални и без нив целиот процес воопшто не би можел да се одвива. Од друга страна, активноста на одредени ензими е регулирана со светлосни сигнали и затоа не може да се каже дека светлината не е потребна за другите реакции.

Светлата фаза е претставена со следните реакции:

- апсорпција на светлината и губење на електрон од молекулот на хлорофилот;
- оксидација на водата и редукција на NADP или NAD;
- транспорт на електрони и оксидо-редукциски реакции;
- фотосинтетска фосфорилација.

Светлината што ја апсорбираат фотосинтетските пигменти овозможува хлорофилот во центарот на реакцијата да го изгуби својот електрон и да редуцира некое друго соединение. Притоа, во молекулот на хлорофилот се формира електронска празнина, која се пополнува со одземање на електрон од некое друго соединение кое има способност да го испушти електрон. Кај зелените растенија почетен донор на електрони е водата, а краен акцептор е CO₂. Од водата до CO₂, електроните се пренесуваат низ повеќе пренесувачи кои градат **електрон-транспортен синџир**. Според тоа, во светлата фаза од фотосинтезата се одвиваат повеќе оксидо-редукциски реакции за кои важат правилата на редокс системите. Кај фотосинтетските организми се разликуваат два начина за транспорт на електрони:

- нецикличен или линеарен транспорт;
- цикличен транспорт.

Синтезата на АТР е поврзана со транспортот на електроните и поради тоа овие процеси се викаат **нециклична** или **циклична фотосинтетичка фосфорилација**.

6.7.1 Општи карактеристики на редокс системите

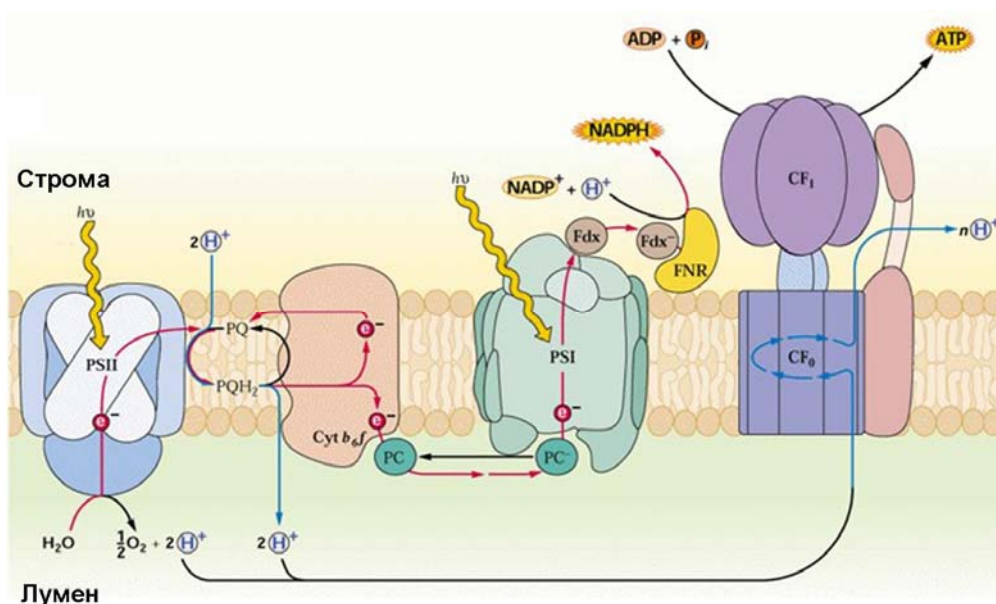
Оксидацијата и редукцијата се врши помеѓу две соединенија, од кои едното го пренесува својот електрон на другото соединение. Насоката на пренесување на електроните е одредена со редокс потенцијалот на пренесувачите. Редокс потенцијалот (E_0) на некое соединение ја претставува неговата способност да редуцира или оксидира некое друго соединение. Тоа е релативна големина и се определува во однос на водородната електрода, чии редокс потенцијал е -0.42 V при $\text{pH } 7$. Имено, соединенијата чиј редокс потенцијал е негативен можат да ги редуцираат оние со позитивен редокс потенцијал. Примарниот донор на електрони во фотосинтезата е водата која оксидира во O_2 . Крајниот акцептор на електрони CO_2 се редуцира во $[\text{CH}_2\text{O}]$. Овие реакции се одвиваат со трошење на енергија, а тоа се случува со помош на светлината и со учество на хлорофилот. Во основната состојба, редокс потенцијалот на хлорофилот во реакционите центри е позитивен. Но, по апсорпција на светлината, хлорофилот во PSI стекнува својство на силен редуктант кој може да редуцира соединенија со низок негативен редокс потенцијал, а хлорофилот во PSII станува силен оксиданс кој може да ја оксидира водата.

6.7.2 Нецикличен (линеарен) транспорт на електрони

При транспортот на електроните од водата до NADP, пренесувачите на електрони се распоредени во линеарен синџир и поради тоа овој транспорт се вика нецикличен транспорт на електрони. При нецикличниот транспорт на електрони се добиваат следните производи: O_2 , NADP и ATP. Електрон-транспортниот синџир го сочинуваат следните фрагменти:

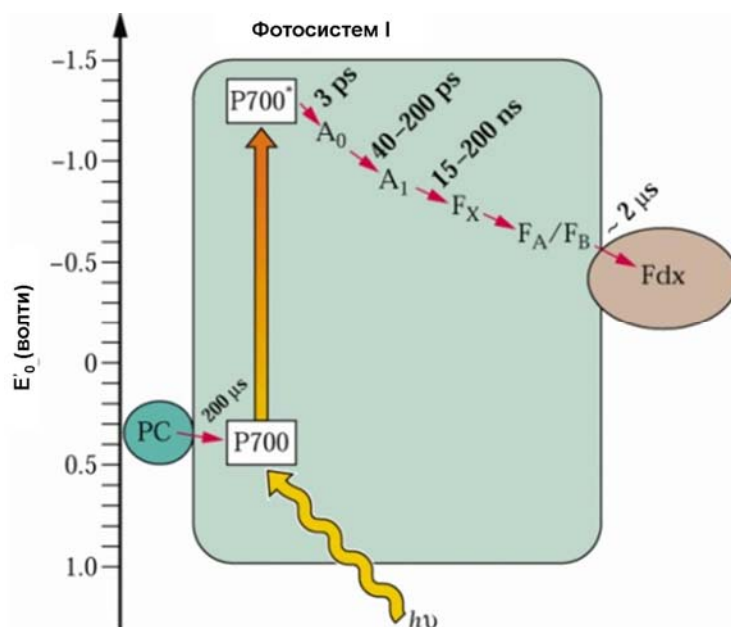
- реакционите центри на двата фотосистема (P700 и P680);
- два синџира на примарни акцептори на електрони, по еден за секој реакционен центар;
- еден интермедиерен синџир што го поврзува P680 со P700; тој ги опфаќа комплексот на цитохромите b_6f , како и двата пренесувачи пластоцијанинот и пластохинонот, надвор од комплексот;
- мобилен протеин фередоксин и асоциран протеин фередоксин-NADP редуктаза заедно со PSI;
- комплекс кој ослободува O_2 заедно со PSII.

Линеарниот електрон-транспортен синџир е претставен на (Сл. 6.13) онака како што се претпоставува дека се поставени различните пренесувачи во мембраната на тилакоидот. Електроните преминуваат од внатрешната (луминална) на надворешната (стромална) страна од мембраната. Во липидниот двослој на мембраната пренесувачите се латерално подвижни. Hill и Bendall (1960) ги претставиле компонентите на нецикличниот транспорт на електрони. Според овие автори е добиена карактеристичната шема на нецикличниот електрон-транспортен синџир позната како “Z” шема, бидејќи има форма на буквата Z (Сл. 6.12).



Сл. 6.13 Организација на протеинскиот комплекс кој извршува нецикличен транспорт на електрони и транспорт на протони во мембраната на тилакоидите (Malkin и Niyogi, 2000).

Транспортот на електроните започнува кога реакционите центри на двата фотосистеми ќе примат екситон од антена-пигментите, при што ќе изгубат електрон. Така, P700 од основната состојба преминува во екситирана состојба P700*, а екситацијата се случува за време од 1.5 ps (пикосекунда = 10^{-12} s). P700* го предава електронот на соединението A₀, а со тоа се извршува првата фотохемика реакција т.е. формирањето на електронскиот пар P700⁺/A₀⁻. Потоа, електронот преминува на A₁, а по подолго време преку Fx преминува на F_A и F_B (Сл. 6.14).

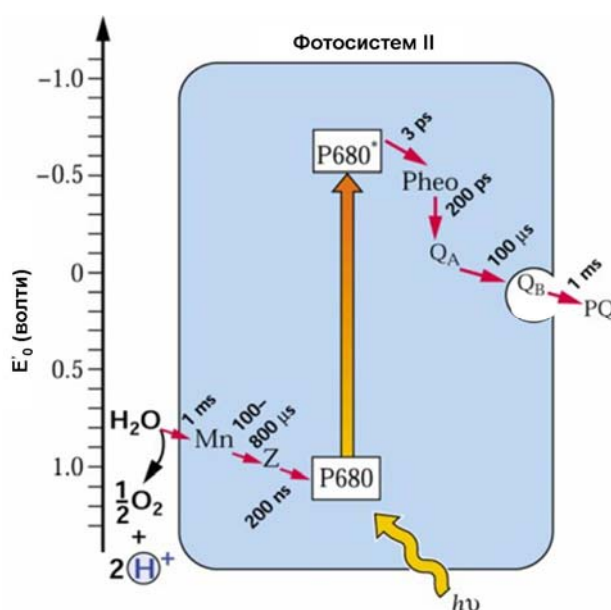


Сл. 6.14 Раздвојување на позитивниот и негативниот полнеж и стабилизација на примарните фотохемика реакции во фотосистем I (Buchanan и сор., 2002).

За тоа време P700⁺ (во кој останала електронска празнина) станува акцептор и одзема еден електрон од **пластоцијанинот**. Електронот кој го напуштил P700 се предава преку F_{A/B} **фередоксинот** на посебно рецепторско место на полипептидот од

PSI. Тој го редуцира **NADP** преку **фередоксин-NADP-редуктазата** (Сл. 6.14). Поради тоа што фередоксинот пренесува по еден електрон, а за редукција на NADP се потребни два електрона, се смета дека најверојатно во овој процес дејствуваат 2Fd. Меѓутоа, двата протона што се потребни за редукција се користат од растворот на стромата, а тоа предизвикува намалување на концентрацијата на H^+ јони и зголемување на рН вредноста.

Постои функционална разлика помеѓу двата хинони. Хионот Q_A е цврсто врзан за протеин и се редуцира само со еден електрон, при што се добива семихион. Слични просеси на екситација и губење на електрони се случуваат и во фотосистемот II. P680 од основната состојба преминува во екситирана состојба $P680^*$ и го редуцира **феофитинот** за време од 2 ps. Формирањето на електронскиот пар $P680^+/Feo^-$ е резултат на првата фотохемиска реакција. **Феофитинот** го предава електронот на **хиноните** Q_A и Q_B , кои се наоѓаат на стромалната страна од мембраната. Сукцесивното пренесување на електроните во комплексот P680 и примарните акцептори е прикажан на Сл. 6.15.



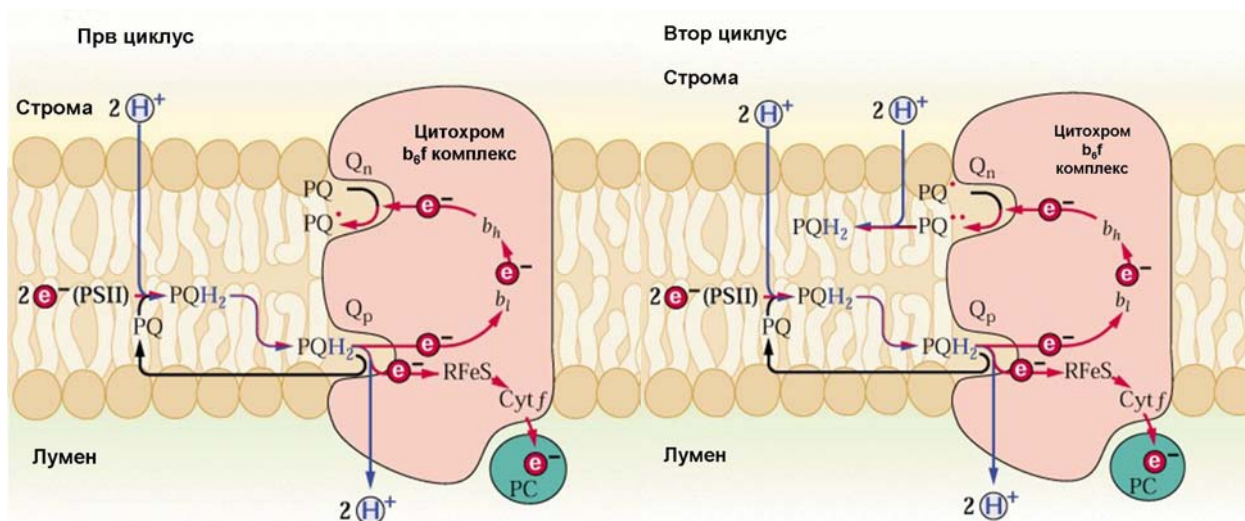
Сл. 6.15 Раздвојување на позитивниот и негативниот полнеж и стабилизација на фотохемиските реакции во фотосистемот II (Buchanan и сор., 2002).

Хионот Q_B се наоѓа во оксидирана состојба и исто така е врзан за протеин, а за негова редукција се потребни два електрона и два протона. Неговата редукција се врши во два степен. Во првиот степен, Q_A прима еден електрон од $P680^*$ преку феофитинот и го пренесува на Q_B , кој го задржува електронот. Меѓутоа, $P680^+$ го надополнува изгубениот електрон преку оксидација на водата, а при негова повторна екситација го отпушта и вториот електрон кој стигнува до Q_B . Во оваа форма, Q_B одзема два протона од стромата, при што се создава редуциран **пластохинол** (PQH_2). Во тој момент, пластохинолот дисоцира и влегува во состав на пластохиноните, а на неговото место се врзува друг оксидиран **пластохинон** (**PQ**). На тој начин слободните пластохинони се збогатуваат со редуцирани форми. Пластохиноните се оксидираат во комплексот цитохром b_6f .

Ако пластохиноните се редуцирани и не се во состојба да примат нови електрони, тогаш електроните се враќаат на $P680^+$, а вишокот на енергија се емитува како квант светлина. Времето на оваа емисија е многу подолго, отколку при флуоресценција на антена-хлорофилот и затоа оваа појава се вика **одложена**

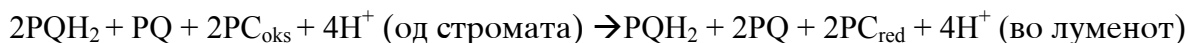
емисија на светлината (= delayed light emission). Меѓутоа, ако електронот од $Q_{A/B}$ се пренесе на пластохинонот, тогаш ќе отсуствува емисија на светлината односно “се гаси”. Оттука буквата Q потекнува од зборот quencher (to quench = гаси).

За да премине електронот од Q_B на хиноните во интермедиерниот дел на електрон-транспортниот синџир, потребно е овие пренесувачи да не бидат во редуцирана форма. Нивната оксидација ја овозможува $P700$ кој одзема електрони прво од пластоцијанинот, а потоа преку него и од b_6f комплексот, кој го оксидира пластохинонот.



Сл. 6.16 Транспорт на електрони и протони низ хинонскиот (Q циклус) и низ комплексот цитохром b_6f . Во првиот циклус пластохинонот (PQ) прима 2 електрони од PS II и 2 протони од стромата и преминува во пластокинол (PQH_2). Протоните се ослободуваат во луменот, еден електрон преминува на пластоцијанинот (PC), а другиот електрон преку двата цитохроми (b_L и b_H) преминува на другиот пластохинон, формирајќи семикинол (PQ^*). Во вториот циклус учествува нов пластохинон (PQ) кој прима 2 електрони од PS II и нов пар на протони од стромата. Исто така, протоните се ослободуваат во луменот, а електроните се насочуваат на PC и PQ^* . PQ^* преминува во кинол (PQ^{**}), користејќи трет пар на протони од стромата и како PQH_2 ја збогатува резервата од редуцирани пластохинони во липидниот слој на мембраната. Вкупно 2 електрони се пренесуваат на PC и понатаму на PSI, а 4 протони се пренесуваат од стромата во луменот (Malkin и Niyogi, 2000).

Во комплексот **цитохром b_6f** , освен транспорт на електрони се случуваат и други значајни процеси. Редуцираниот пластокинол (PQH_2) носи два електрона и два протона, а повторната оксидација на PQH_2 е цикличен процес и е означен како хинонски **Q-циклус** (Сл. 6.16). На комплексот цитохромот b_6f се наоѓаат две места за кои се врзуваат хиноните. Првото место лежи блиску до Fe-SR протеинот и цитохромот b_6 со низок редокс потенцијал, а второто место е блиску до стромата. Првиот пластокинол предава еден електрон на Fe-SR центарот, а вториот на цитохромот b_6 , додека протоните се пропуштаат во луменот на тилакоидите. Електрон од Fe-SR се пренесува на пластоцијанинот, а електронот од b_6 (од b_6LP на b_6HP) редуцира еден нов хинон во семикинол (PQ^*). Потоа, друг пластокинол (PQH_2) минува низ истиот процес, еден електрон преку Fe-SR се пренесува на пластоцијанинот, а вториот преку двата цитохроми ја довршува редукцијата на семикинонот, кој одзема $2H^+$ од стромата и преминува во пластокинол, а на тој начин се зголемува бројот на редуцираните пластохинони. Вкупниот биланс на овие реакции може да се претстави со следнава равенка:



Според тоа, функцијата на комплексот од цитохромите b_6f е пренесување на електрони низ мембраната и пренесување на протони од стромата во луменот на тилакоидите. Всушност, трансмембранскиот протонски градиент ја индуцира фосфорилацијата. Редуцираниот пластоцијанин го надополнува изгубениот електрон во реакциониот центар P700^+ .

6.7.2.1 Оксидација на водата

Начинот на кој се разложува и оксидира водата, како и начинот на кој се редуцира P680^+ при нецикличниот транспорт на електрони е најмалку истражуван и познат. Во процесот на разложување и оксидација на водата учествува **комплексот-кој ослободува O_2** и кој се состои од најмалку три протеини поврзани на внатрешната страна од тилакоидите за D_1/D_2 протеинот во PSII . Познато е дека за еден протеин се поврзани 4 атоми на манган (Mn) и неопходно потребно е присуството на јони од Cl^- и Ca^{2+} , но улогата на овие јони не е доволно објаснета.

Реакцијата за ослободување на O_2 може да се претстави на следниов начин:

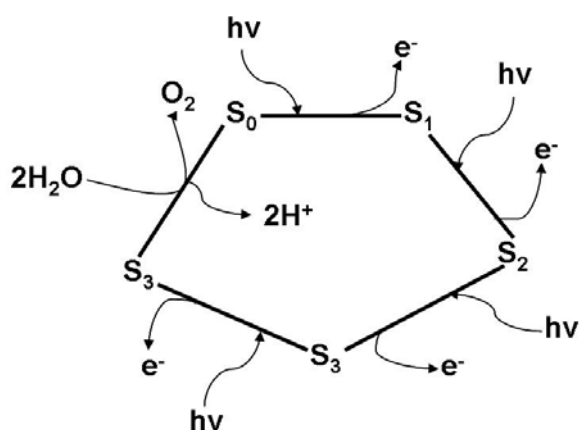
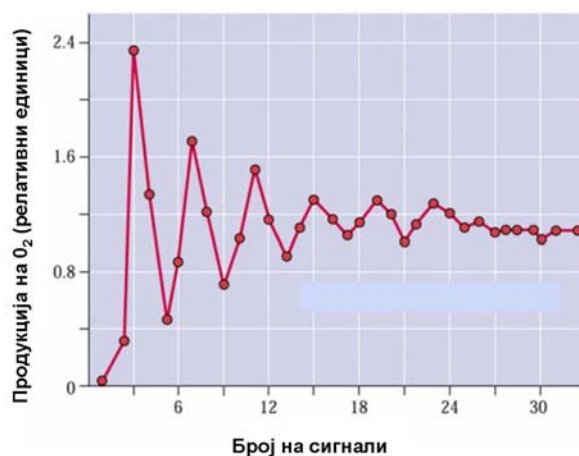


Според оваа равенка, две молекули на вода (односно 2H^+ и 2OH^-) се оксидираат во O_2 , при што се одземат 4 електрони кои се пренесуваат на P680^+ , а 4H^+ остануваат во луменот на тилакоидите. Меѓутоа, овие протони придонесуваат во зголемувањето на трансмембранскиот градиент на истите.

Ослободувањето на O_2 е сложен процес и се одвива во повеќе последователни степени. Имено, комплексот што го ослободува O_2 поминува низ 5 оксидациони состојби S_0 - S_4 , а тоа се овозможува преку кумулативното дејство на 4 светлосни реакции (Сл. 6.17). На темно, комплексот се наоѓа во S_1 состојба. Со помош на три фотони на светлина доаѓа до одземање на по еден електрон и промена на состојбите: S_1 во S_2 , S_2 во S_3 и S_3 во S_4 , кога се ослободува и максимално количество на O_2 . Потоа, е потребен само еден фотон светлина повеќе за да помине S_4 во S_0 . Протоните се ослободуваат помеѓу S_0 - S_1 , S_1 - S_2 и S_4 - S_0 . Кога комплексот ќе дојде во состојба S_4 се акумулира доволно количество на енергија што ќе ја оксидира водата. Така, за еден ослободен O_2 се одземаат вкупно четири електрони, а тоа значи дека се потребни четири фотони. При одземање на електрони од S_0 - S_4 учествуваат збир од 4 атоми на манган кои помеѓу себе се поврзани во непозната структура. Оваа претпоставка за оксидација на водата генерално е прифатена и покрај тоа што состојбите S_0 - S_4 хемиски не се дефинирани.

Според поновите истражувања, електроните од водата се пренесуваат на P680^+ преку еден пренесувач означен со буквата **Z**. Се смета дека пренесувачот **Z** се наоѓа на еден сегмент од протеинот D1/D2 и дека тој е радикал на аминокиселината тирозин, **Tyrz**.

Протоните кои при транспорт на електрони од H_2O до NADP се акумулираат во луменот на тилакоидите претставуваат протонска моторна сила што се користи за синтеза на ATP . Овој процес е познат како **нециклична фотосинтетска фосфорилација**, а производи на овој процес се: O_2 , NADPH и ATP .



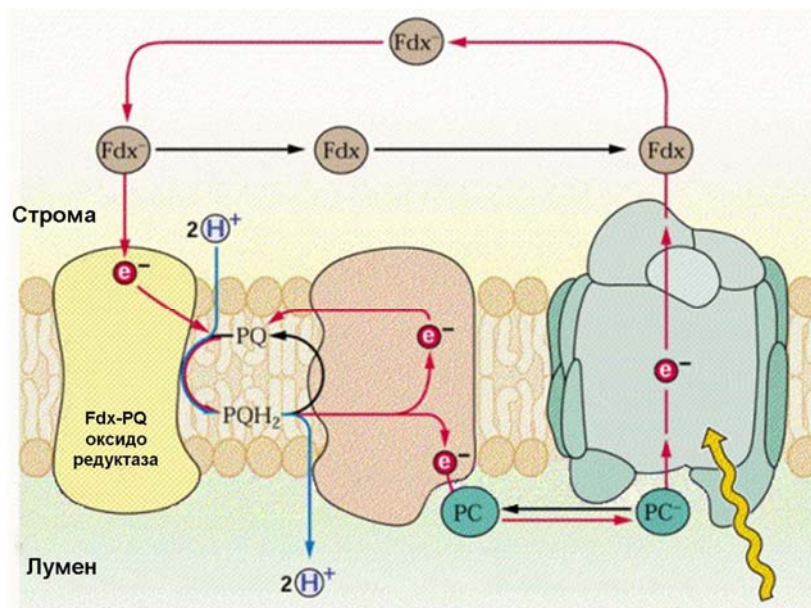
Сл. 6.17 Графикот го покажува ослободувањето на O_2 во мембраните на хлоропластите адаптирани на темно, а се осветлени со светлина со силен интензитет. Непосредно по осветлувањето, максималното количество на O_2 се ослободува после третиот светлосен сигнал, а потоа после секој четврт светлосен сигнал. Шемата го претставува кинетичкиот модел на акумулација на енергија во систем кој ослободува O_2 . По секој апсорбиран фотон од страна на P680 се одзема еден електрон, а комплексот постепено преминува од состојба S_0 во S_4 . Губењето на секој електрон го зголемува позитивниот полнеж на комплексот. Состојбата S_4 содржи доволно количество на акумулирана позитивна енергија и може да оксидира две молекули на вода и да произведе O_2 . 4 електрони се пренесуваат на $P680^+$, а 4 протони остануваат во луменот на тилакоидите (Buchanan и сор., 2002).

6.7.3 Цикличен транспорт на електрони

Електроните од фотосистемиите со помош на синџир од пренесувачи можат да се вратат повторно на реакциониот центар од каде што потекнуваат, а ваквиот транспорт е познат како **цикличен транспорт на електрони**. Овој транспорт има големо физиолошко значење за PSI, додека PSII не учествува во овој транспорт и поради тоа нема оксидација на водата и продукција на O_2 .

Во цикличниот транспорт, ексцитираниот P700 ги предава електроните на акцепторите A_0 , A_1 , F_x и $F_{A/B}$ кои го редуцираат фередоксинот. Меѓутоа, при овој транспорт фередоксинот не го редуцира NADP, туку преку **фередоксин-пластохинон оксидоредуктаза** ги предава електроните на пластохинонот кој е врзан за цитохром b_6f . На крај се редуцира пластоцијанинот и го враќа електронот на $P700^+$ (Сл. 6.18). Цикличниот транспорт на електрони е овозможен со помош на комплексот на цитохроми, кој се наоѓа во близина на PSI. При овој транспорт се врши оксидација и редукција на пластохинонот, а протоните се пренесуваат од стромата во луменот на

тилакоидите при што се овозможува синтеза на АТР. Овој процес е познат како **циклична фотосинтетска фосфорилација** и единствен негов производ е **АТР**.



Сл. 6.18 Цикличен транспорт на електрони претставен во однос на положбата на пренесувачите во мембраната на тилакоидите. Во овој транспорт учествува само PSI, кој го оксидира PC и го редуцира Fd преку пренесувачите на електрони. Електроните преминуваат од Fd на PQ со помош на ензимот Fd-PQ оксидоредуктаза. PQ превзема 2 протони од стромата и ги ослободува во луменот на тилакоидите. Еден од електроните се пренесува од PQ на PC, а другиот преку цитохром b на PQ. Електроните поминуваат низ цикличен пат и тоа тргнуваат од P700 и се враќаат повторно на истиот. За разлика од нецикличниот пат, при цикличниот транспорт нема редукција на NADP и не се ослободува O₂. Во луменот се воспоставува протонска моторна сила и се произведува АТР, поради тоа што хинонскиот циклус е веќе активиран (Malkin и Niyogi, 2000).

6.7.4 Функција на антена пигментите

Во реакциониот центар на фотосистемите единствено димерниот хлорофил а има способност да изгуби електрон, а со тоа да почне фотосинтетскиот процес. Се смета дека на еден фотохемиски активен хлорофил а постојат околу 300 молекули хлорофил, што дејствуваат како помошни пигменти или антени за апсорпција на светлината.

Енергијата што ја апсорбираат помошните пигменти или повторно се емитира како флуоресценција или се пренесува како екситон на некој друг молекул од хлорофил во рамките на комплексот кој ја апсорбира светлината. Пренесувањето на екситонот е можно поради тоа што молекулите од хлорофилот се сместени една до друга на протеинскиот носач во мембраната на тилакоидот, а се разликуваат по апсорпциониот спектар.

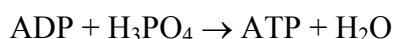
Кога хлорофилот е екстрахиран во некој органски растворувач (*in vitro*) се одвојува од протеинот и тогаш сите негови молекули се мономерни и имаат ист спектар на апсорпција. Меѓутоа, во *in vivo* услови, хлорофилите имаат различни апсорпциони спектри. Така на пр., хлорофилот **a** апсорбира светлина со бранова должина од 622, 670, 684, 692 и 700 nm. Хлорофилот **b** апсорбира на 640 и 650 nm. Различните спектрални максимуми имаат посебно значење во пренесувањето на екситоните кое може да се реализира од молекул со поголема енергија на молекул со помала енергија, односно од помала кон поголема таласна должина. Во секој

фотосистем, реакциониот центар апсорбира зраци со најголема бранова должина (најмала енергија). Враќањето на екситонот во спротивен правец не е можно. На тој начин, пренесувањето на екситонот е канализирано во насока на реакциониот центар (Сл. 6.11).

6.8 Фотосинтетска фосфорилација

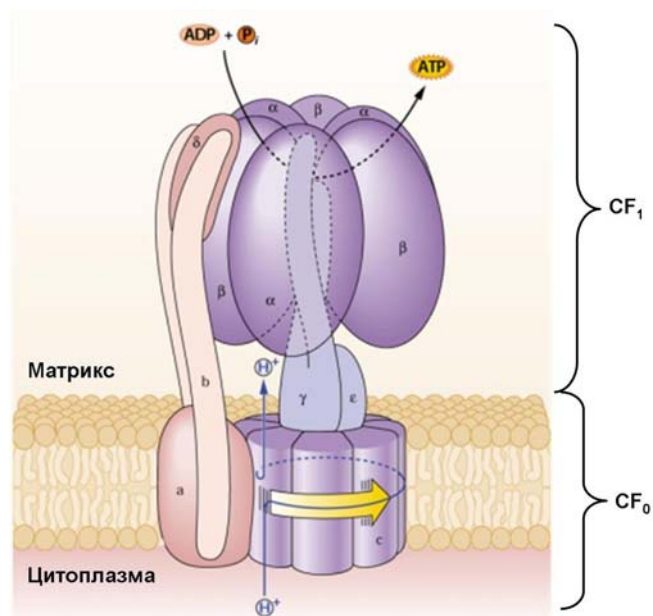
Транспортот на електрони и протони во фотосинтетската мембрана е поврзан со синтезата на АТР, кој е неопходно потребен за синтезата на органските соединенија и за многу други процеси. Синтезата на АТР е објаснета со помош на **хемиосмотската хипотеза**, за која авторот Mitchell во 1978 добил Нобелова награда. Оваа хипотеза се применува и за објаснување на оксидативната фосфорилација во митохондриите. Според хемиосмотската хипотеза, фосфорилацијата може да се одвива во некои мембрански везикули, како што се хлоропластите (тилакоидите), митохондриите или бактериските клетки. Единствен услов за одвивање на фосфорилацијата е мембраната да биде непропустлива за пасивен транспорт на протони, а во неа да постои електрон-транспортен синџир. Во овој синџир потребно е да се заменат компонентите кои при оксидација и редукција пренесуваат по еден електрон со оние кои пренесуваат по 2 електрона и 2 протона. Во тилакоидите, оваа замена е направена со сукцесија на фотосистем II-хинони-пластоцијанин. Според тоа, хинонскиот Q-циклус има клучна улога во промената на бројот на електрони кои се пренесуваат (1-2-1). Транспортот на протони е векторски, како резултат на положбата на протеинските носачи што ги врзуваат протоните на едната страна од мембраната, а ги отпуштаат на другата страна од мембраната. Во тилакоидите, протоните се земаат од стромата, а се испуштаат во луменот. Во митохондриите, протоните се врзуваат во матриксот, а се ослободуваат во просторот помеѓу двете мембрански обвивки.

Во хлоропластите, редукцијата и оксидацијата на хиноните во Q-циклусот овозможува пренесување на 4H^+ , при пренесување на 2 електрона. Во тилакоидите, градиентот на протоните се зголемува и поради одвивање и на други реакции. Така на пр., при оксидација на водата протоните остануваат во луменот, а при редукција на NADP се трошат во стромата. При акумулација на H^+ во луменот доаѓа до излегување на Mg^{2+} од стромата и до примање на Cl^- во луменот. Според тоа, за синтеза на еден молекул АТР, 4H^+ треба да се вратат преку АТРАЗата од тилакоидите во стромата. АТР синтазата се наоѓа во тилакоидите на стромата и во оние делови на тилакоидите што се наоѓаат на периферијата на граната. Протонската моторна сила што се формира на тилакоидната мембрана како резултат на собирањето на протони во луменот на тилакоидите претставува движечка сила во синтезата на АТР.

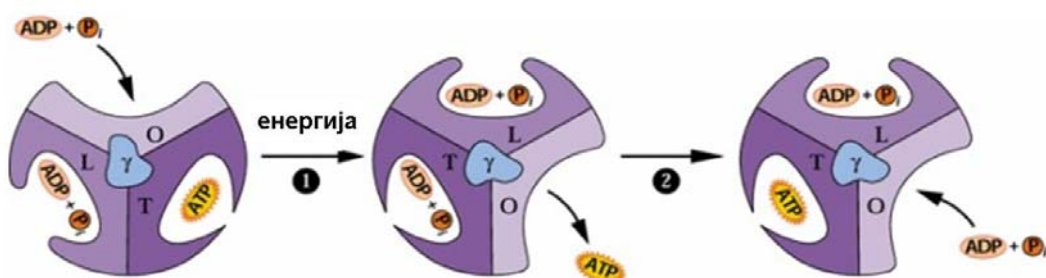


АТР синтазата се состои од два сегменти. Сегментот CF_0 е хидрофобен и поминува низ мембраната, а сегментот CF_1 претставува крупна хидрофилна глобула која лежи во стромата. Затоа, овој ензим е познат како $\text{CF}_0\text{-CF}_1$ комплекс кој има маса од 400 kD и изгледа како глобула на дршка (Сл. 6.19). Секој сегмент се состои од повеќе субединици. Сегментот CF_1 се состои од 5 различни субединици, означени со буквите од α до ϵ , а големите субединици α и β се наоѓаат во трипликат. Така во составот на сегментите се наоѓаат $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$. Субединиците на сегментот CF_0 градат канал низ мембраната, а низ него поминуваат протоните. Сегментот CF_1 , односно неговите субединици α и β имаат каталитичка функција. Субединицата γ

има регулаторна функција, а другите субединици најверојатно ги поврзуваат двата сегмента (Abrahams и соp., 1994).



Сл. 6.19 Модел на реверзна АТР-аза. Регионот CF_0 се наоѓа во мембраната на тилакоидите и гради канал за преминување на протоните. На стромалната страна се наоѓа глобуларниот CF_1 регион составен од 3 α и 3 β субединици и γ субединица во центарот, која со своето ротирање ја менува конформацијата на останатите субединици (Malkin и Niyogi, 2000).



Сл. 6.20 Модел на конформациони промени во CF_1 регионот на АТР-азата. Помеѓу α и β субединиците можни се три положби во кои се наоѓаат ADP и P_i . Отворената положба (O) прима ADP и P_i . По ротацијата се менува конформацијата на комплексот, а ADP и P_i постигнуваат положба во која се лабаво поврзани (L). На крај, се формира положба на цврсто врзување (T), во кое доаѓа до синтеза на АТР. Ова место повторно се отвора, АТР излегува од комплексот и со неговото ослободување се овозможува прием на следниот пар од ADP и P_i . За конформационите промени во првиот степен потребна е енергија која потекнува од транспортот на протоните низ мембраната, додека за вториот степен не е потребна дополнителна енергија (Malkin и Niyogi, 2000).

Начинот на кој се синтетизира АТР во тилакоидите е сличен како и во митохондриите каде што се наоѓа ензимот F_0F_1 АТР-аза, а бил опишан од Walker и Боуер кои добиле Нобелова награда за хемија во 1997 година. Овие автори го опишале F_1 сегментот како глобула во која наизменично лежат α и β субединиците, а помеѓу нив во центарот се наоѓа γ субединицата која се протега до регионот на дршката. На α и β паровите се наоѓаат три места за кои истовремено се врзуваат ADP и P_i . Протокот на протони низ каналот предизвикува ротација на γ субединицата. Отвореното место O (O-site = open) прво преминува во место L на кое

лабаво се врзуваат ADP и Pi (L-site = loose), а потоа во место T (T-site = tight) на кое се остварува тесна врска помеѓу ADP и Pi. Кога ќе заврши синтезата на ATP, местото T повторно се отвора, ATP се ослободува и повторно може да се врзат нови ADP и Pi (Сл. 6.20).

Овој механизам за синтеза на ATP е идентичен во митохондриите и хлоропластите. Тој е во корелација со хемиосмотската хипотеза, бидејќи транспортот на протони е предизвикан од градиентот на концентрацијата на H^+ помеѓу луменот на тилакоидите и стромата. Меѓутоа, синтезата на ATP е целосно реверзибилен процес и ATPазата може да го хидролизира ATP во спротивна насока. Насоката на процесот ја регулира γ субединицата, која е инактивирана ако е во оксидирана форма. Нејзината активност по пат на редукција ја контролира ензимскиот систем фередоксин/тиоредоксин и тоа само во присуство на светлина, кога фередоксинот се редуцира во електрон-транспортниот синџир.

6.9 Координација на процесите во светлата фаза на фотосинтезата

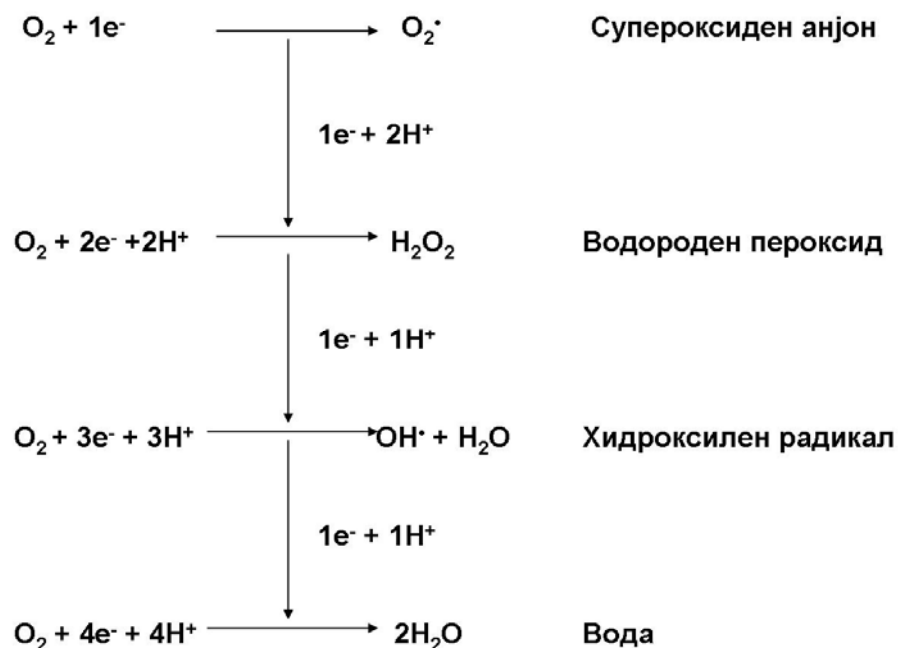
Кај алгата *Chlorella pyrenoidosa* било мерено количеството на ослободен O_2 при осветлување со монохроматска светлина со различна бранова должина (Emerson и Lewis, 1943). Количеството на ослободен O_2 било пресметано врз база на бројот на апсорбирани фотони и притоа биле добиени речиси исти вредности за сите испитувани бранови должини. За да се ослободи еден молекул на O_2 , во транспортот учествуваат 4 електрони. Имено, за транспорт на еден електрон на NADP се потребни 2 фотони и тоа едниот за екситација на PSI, а другиот за екситација на PSII. Според тоа, логично е дека за транспорт на 4 електрони се потребни 8 фотони. Вредноста за количеството на ослободен O_2 на еден апсорбиран фотон изнесува 0.08-0.09 O_2 и се вика **квантен принос**. Интензитетот на фотосинтеза е пропорционален со бројот на апсорбирани кванти светлина независно од брановата должина. Намален интензитет на фотосинтеза се јавува при светлина со бранова должина од 480 nm која ја апсорбираат каротеноидите и при бранова должина поголема од 680 nm која ја апсорбира само PSI. Интензитетот на фотосинтезата зависи од количеството на енергија што го апсорбираат помошните пигменти во собирачките комплекси. За да биде процесот ефикасен, двата фотосистеми треба да имаат исти количества на енергија. При распределбата на енергијата, главна функција има a/b антена комплексот (LHCII). Се смета дека LHCII има еден дел кој е цврсто врзан, а другиот е латерално подвижен и може да се приклучи или на PSI или на PSII. Движењето на a/b антена протеинот е регулирано преку неговата фосфорилација. Имено, кога комплексот не е фосфорилиран, тогаш тој се наоѓа заедно со PSII во граналниот дел на тилакоидите. Меѓутоа, кога е фосфорилиран се преместува до PSI во стромалните тилакоиди. Всушност, фосфорилацијата ја врши посебен ензим **киназа** која е врзана за мембраната, а се активира под дејство на редуцираниот пластохинон. Од друга страна, ензимот **фосфатаза** врши дефосфорилација на комплексот и тогаш тој се враќа до PSII.

Нецикличниот и цикличниот транспорт на електрони се разликува не само по пренесувачите, туку и по крајните производи. При нецикличниот транспорт на електрони се синтетизираат ATP и NADPH, а во цикличниот само ATP. Енергијата што ја носат фосфатната врска на ATP и редуцираниот NADPH се користи за редукција на CO_2 , но и во други биосинтетски процеси. Често пати потребата за ATP е голема и при недостаток на овој фактор престанува редукцијата на CO_2 . При недостаток на оксидиран NADP не е можно пренесувањето на електрони од фередоксинот и во тој случај тие се пренесуваат на пластохинонот и се вклучуваат нецикличниот транспорт на електрони. На ваков начин се синтетизира поголемо

количество на АТР и повторно се воспоставува рамнотежа за синтеза на органски соединенија.

6.10 Фотоинхибиција на фотосинтезата

Познато е дека светлината претставува основен извор на животот на растенијата. Меѓутоа, ако нејзиниот интензитет во природни услови достигне ниво ($2000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), тогаш фотосинтезата веќе не е стимулирана, туку дел од овој процес може да биде и инхибиран. Оваа појава претставува стрес за растенијата и е позната како **фотоинхибиција на фотосинтезата**. Притоа, вишокот на енергија најчесто се предава на O_2 и при негова нецелосна редукција се создаваат реактивни форми на O_2 познати како **слободни кислородни радикали** ($\text{ROS} = \text{reactive oxygen species}$) (Сл. 6.21). Поради тоа, растенијата развиле соодветен механизам на **фотопротекција** од вакви стресни услови. Фотопротекцијата се базира на различни морфолошки карактеристики на растенијата и физиолошки адаптации. Така на пр., листовите можат да ја менуваат својата положба зависно од правецот и интензитетот на светлината и притоа го регулираат количеството на примена енергија. Во клетките на асимилационото ткиво, хлоропластите се поместуваат од клеточните сидови и се поставуваат по должината на сидовите кои се паралелни со правецот на светлосните зраци. Исто така, растенијата кои растат на силно осветлени живеалишта имаат послабо развиени пигменти кои ги апсорбираат фотоните. Сепак, од посебно значење се **физиолошките фотопротективни механизми** што се активираат под влијание на надворешните фактори и овозможуваат толерантност на растенијата кон силна светлина (Niyogi, 1999).



Сл. 6.21 Активирани форми на O_2 , кои настануваат со редукција на O_2 со еден, два или три електрони.

6.11 Извори на реактивни форми на O_2

Присуството на кислород во атмосферата се смета за основен услов за живот. Меѓутоа, некои форми на кислород можат да бидат многу штетни за растителната

клетка. Молекуларниот кислород (O_2) е инертен гас и при негова нецелосна редукција се добиваат токсични форми. За редукција на кислородот потребни се 4 електрони и 4 протони, при што се добива вода (тоа е реверзибилна реакција на оксидацијата на водата при процесот на фотосинтеза). При нецелосна редукција на O_2 , кога истиот се редуцира со помош на еден, два или три електрони се добиваат реактивни форми на O_2 , како што се: супероксидниот анјон ($O_2^{\bullet-}$), водородниот пероксид (H_2O_2) и хидроксилниот анјон ($OH^{\bullet}$). Со исклучок на H_2O_2 , другите реактивни форми содржат **слободни радикали** со неспарени електрони. Овие реактивни форми на O_2 се штетни и токсични и се познати како **слободни кислородни радикали** (ROS = reactive oxygen species) (Сл. 6.21). Молекуларниот O_2 се редуцира преку 4 последователни чекори создавајќи неколку реактивни форми на O_2 ($O_2 \rightarrow (H)O_2^{\bullet-} \rightarrow H_2O_2 \rightarrow HO^{\bullet} + H_2O \rightarrow 2H_2O$).

Слободните радикали, особено $OH^{\bullet}$ ги оштетуваат клеточните структури, при што најчесто доаѓа до пероксидација на мембранските липиди, денатурација на протеините, оштетување на DNA и деструкција на хлорофилот. Редуцираните форми на O_2 се добиваат кај сите растителни и животински клетки, како придружни појави на оксидо-редукциските реакции кои главно се извршуваат под дејство на флавинските ензими. Важно е да се истакне дека кај растителните организми при фотосинтетскиот транспорт на електрони се добива значително количество на O_2 , но притоа се добиваат и редуцирани форми на O_2 . Токсичните форми на O_2 имаат значајно влијание при сенесценцијата, патогенезата, како и при други стресни услови за растителниот организам.

Сепак, потребно е да се нагласи дека фотосинтезата е многу комплексен процес, кој од апсорпција на светлината до фиксација на CO_2 опфаќа повеќе сукцесивни реакции. Имено, за пренесување на електроните, а особено за редукција на некои пренесувачи потребен е многу мал временски интервал (нано или микросекунди). Меѓутоа, побавните процеси го продолжуваат траењето на некој претходен степен во системот и во тој случај доаѓа до пренесување на енергијата или електроните на некои други алтернативни акцептори, како што е кислородот. Така, радикалите на кислородот се добиваат на два начина:

- преку директна интеракција на кислородот со ексцитираниот кислород;
- преку пренесување на електроните од фередоксинот на кислородот.

Кислородот доаѓа во контакт со ексцитираниот хлорофил во рамките на процесите во фотосистемот II. Всушност, после апсорпцијата на фотоните, молекулите на хлорофилот преминуваат во возбудена состојба и тие брзо се ослободуваат од вишокот на енергија ако реакциониот центар P680 е способен да прими ексцитон. Но, ако останат подолг временски период ексцитирани значајно се зголемува преминот во триплет состојба, а тоа е доволно долг временски период за енергијата да се пренесе на кислородот. Во тој случај кислородот преминува во синглет состојба (1O_2), во која е многу реактивен кон протеините, липидите и пигментите. Имено, во рамките на фотосистемот II, пренесувањето на електроните од $Q_{A/B}$ е најбавен процес. Овој процес е бавен поради тоа што резервите на пластохинонот се редуцирани и тој не е во состојба да прими нови електрони. Меѓутоа, од овој ефект растенијата брзо закрепнуваат, особено кога интензитетот на светлината ќе се намали. Пренесувањето на електроните од фередоксинот на O_2 е поврзано со процесите во фотосистемот I. Во PSI може да дојде до застој, кога резервите на NADP се максимално редуцирани поради бавноста на биохемиските реакции во кои тој повторно оксидира. Во тој случај, електроните од фередоксинот се пренесуваат до кислородот и го формираат супероксидниот радикал ($O_2^{\bullet-}$) кој понатаму се редуцира и детоксифицира.

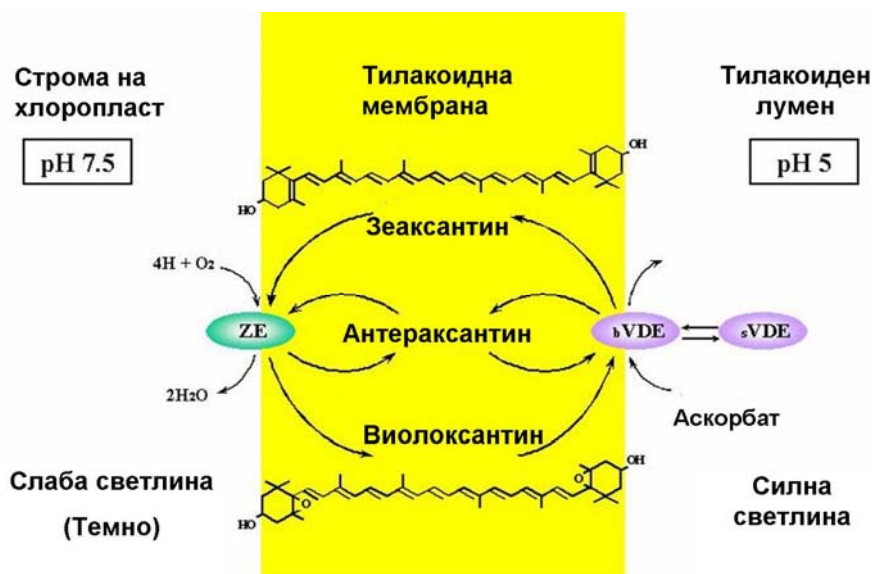
6.12 Заштита од активираниот кислород во хлоропластот

Многу растителни видови во услови на силна инсолација не би преживеале ако не располагаат со различни физиолошки заштитни механизми. Овие механизми ги опфаќаат следниве појави:

- термално растурање на апсорбираната енергија;
- вклучување на алтернативни патишта за транспорт на електрони;
- синтеза на соединенија со антиоксидативни својства;
- активирање на ензими кои ги отстрануваат штетните соединенија;
- способност за брза поправка и замена на протеините, кои биле оштетени при оксидативниот стрес.

Каротеноидите имаат примарна фотопротективна функција во хлоропластите. Како пигменти кои влегуваат во антена комплексите, тие се во блиска врска со ексцитираниот хлорофил. Енергијата од возбудениот хлорофил преминува на каротеноидот, но, тој не може да премине во возбудена состојба и затоа ја испушта енергијата во форма на топлина. Во тој случај се скратува времето на живот на синглет хлорофилот, не доаѓа до формирање на синглет кислород и нема несакани ефекти. Овој процес е познат како **термално растурање на енергијата**. Постои мислење дека при силна светлина, повеќе од 75% од апсорбираната енергија може да биде елиминирана на ваков начин. Интересен е податокот дека активираниот кислород предизвикува избелување (бела боја) на хлорофилот. Имено, мутантите од алги и бактерии кои немаат каротеноиди не се во состојба да живеат во аеробна средина и во присуство на светлина.

Во ослободувањето на вишокот на енергија од фотосинтетскиот апарат, важна улога има **ксантофилниот циклус** кој се наоѓа во сите пигментни антена комплекси во тилакоидната мембрана. Тој се состои од три ксантофили: **зеаксантин**, **виолаксантин** и **антераксантин**, кои меѓу себе се разликуваат по степенот на **епоксидација**. Јонските прстени на ксантофилите имаат по една незаситена врска и на неа со адиција на кислородот се формира тричлен епоксиден прстен. Зеаксантиот нема ниту една епоксидна врска и во присуство на кислород прво настанува епоксидација на едниот прстен, при што се создава интермедиерот антераксантин, а потоа и на другиот прстен, при што се создава диепоксид виолаксантин. Ензим кој учествува во овој процес е **зеаксантин епоксидазата**, а со помош на **виолаксантин деепоксидазата**, реакциите целосно се реверзибилни (Сл. 6.7). Всушност, термално растурање на енергијата врши само зеаксантиот. При силен интензитет на светлина, речиси целото количество на виолаксантин преминува во зеаксантин, а со тоа се овозможува конверзија на вишокот апсорбирана светлосна енергија во топлотна. Процесот е регулиран со помош на активноста на деепоксидазата, која е лоцирана на луминалната страна од тилакоидот и се активира при пониска рН вредност (оптимална рН е 5.2), која се воспоставува во луменот при транспортот на протоните во присуство на светлина. Кофактор на деепоксидазата е **аскорбатот** (Ask), кој преминува во **монодехидроаскорбатен радикал** и во **дехидроаскорбат** (DHA) (Сл. 6.22). Повторна епоксидација на зеаксантиот се случува на стромалната страна на тилакоидот, а епоксидазата се активира при рН 7.5. За епоксидација се потребни кислород и NADPH кој во оваа реакција се оксидира (Сл. 6.22). Според тоа, се смета дека намалувањето на рН во луменот на тилакоидите претставува клучен сигнал преку кој растението ја "чувствува" силната светлина. Ксантофилниот циклус има повеќе функции, а најважна од нив е учеството на зеаксантиот во термалното растурање на енергијата (Horton и сор., 1996).



Сл. 6.22 Учество на ксантофилниот циклус во термалното растурање на енергија во мембраната на тилакоидите. При силна светлина, виолаксантин деепоксидазата (VDE) врши деепоксидација на виолаксантинот во зеаксантин, што е стимулирано при ниска pH на луменот. Аскорбатот кој е кофактор на овој ензим се редуцира во монодехидроаскорбат (MDA). Спротивниот процес го врши зеаксантин епоксидазата (ZE) при слаба светлина на стромалната страна, каде pH е поголема.

6.13 Псевдоциклична фотофосфорилација

При посебни стресни услови, кога е активен нецикличниот транспорт, електроните од фередоксинот се пренесуваат на O₂ наместо на NADP (Мелерова реакција) и на таков начин се добива супероксиден радикал. Во овој случај не може да се детектира ослободување на O₂. Овој процес е сличен на цикличниот транспорт и бидејќи не се формира NADPH се вика **псевдоцикличен** транспорт на електрони. Во услови на силна светлина, кога O₂ постигнува висока концентрација во хлоропластот, тогаш сите пренесувачи на електрони се максимално редуцирани, а нивната повторна оксидација заостанува поради бавните биохемиски процеси. Во услови на суша, стомите се затворени, а концентрацијата на CO₂ е намалена, но и NADPH не е во состојба да се врати во оксидирана форма. Всушност, при псевдоцикличниот транспорт на електрони се вклучува целиот линеарен електрон-транспортен синџир, а според тоа и пластохинонскиот циклус. Во таква состојба се обезбедува транспорт на протони од стромата во луменот на тилакоидите, а со тоа се создаваат услови за фотосинтетска фосфорилација дури и во услови кога биохемиската реакција е прекината. Негативна последица на псевдоцикличниот транспорт на електрони е тоа што се врши редукција на O₂ и се добива супероксиден радикал (O₂^{•-}), кој мора да се отстрани пред да се оштетат хлоропластите. Единствена корист за растението од псевдоцикличната фосфорилација е тоа што се овозможува синтеза на АТР при неповолни услови. Бидејќи при овој процес се создаваат слободни кислородни радикали станува дискутабилен неговиот корисен ефект, кој зависи од способноста на растението да го неутрализира токсичното дејство на кислородните радикали.

6.14 Супероксид дисмутаза и аскорбат-глутатионски циклус

Супероксидниот радикал се создава во хлоропластите на повеќе начини, но најчесто се добива при пренесување на електроните од фередоксинот на O_2 . Во хлоропластите постои ензимот **супероксид дисмутаза (SOD)**, кој веднаш го редуцира супероксидот во помалку токсичен пероксид ($O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$), кој со помош на ензимот **аскорбат пероксидаза** (AA електрон донор + $H_2O_2 \rightarrow DHA + 2H_2O$) во хлоропластите се разградува на вода и кислород. Ензимот супероксид дисмутаза (SOD) ја зголемува својата активност при различни неповолни стресни услови: оксидативниот стрес, озонот, силната светлина, високата температура, SO_2 , третманот со хербициди и др. Очигледно е дека овој ензим е широко распространет во рамките на заштитниот механизам против неповолните фактори од надворешната средина. SOD е мултимерен металпротеин во цитосолот на еукариотите. Во хлоропластите, овој ензим е врзан за Cu/Zn, додека кај другите организми е поврзан за други метали (Mn, Fe).

H_2O_2 и во ниски концентрации е токсичен за фотосистемите (PSI и PSII), како и за ензимите од редуктивниот пентозен циклус во хлоропластите. Кај повеќето живи клетки разложувањето на пероксидите го вршат ензимот **каталаза** ($2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$) и различни **пероксидази** ($R'H_2$ донор + $H_2O_2 \rightarrow R'$ оксидиран донор + $2H_2O$). Во клетките на листот, каталазата е активна во пероксизомите, додека хлоропластите немаат каталаза туку поседуваат систем на **аскорбат пероксидази**, кои се наоѓаат во луменот на тилакоидите или се поврзани за тилакоидните мембрани, а исто така може да бидат и растворливи во стромата. Супероксидот и пероксидот што се добиваат при Мелеровата реакција се оксидираат со помош на врзани ензими-супероксид дисмутази и пероксидази, а притоа се произведуваат H_2O и O_2 . Супероксидот е изложен на дејството на ензими кои се растворени во стромата. Ензимот SOD произведува H_2O_2 кој се отстранува со помош на ензимот аскорбат пероксидазата, при што аскорбатот се оксидира во монодехидроаскорбат (MDA). MDA спонтано преминува во дехидроаскорбат (DHA), кој влегува во **аскорбат-глутатионскиот** циклус.

Глутатионот е трипептид (глутаминска киселина - цистеин - глицин) и во оксидирана форма, две молекули на глутатион се врзани за сулфур (GSSG), а кога се редуцира се добиваат два молекула на глутатион (GSH). Оксидираниот глутатион се редуцира со помош на **глутатион редуктаза** (GR), при што се користи еден молекул на NADPH ($NADPH + GSSG \rightarrow NADP^+ + 2GSH$). Аскорбатот кој се редуцирал при деепоксидација на виолаксантинон во **монодехидроаскорбат**, повторно се оксидира со помош на **аскорбатна пероксидаза** во луменот. Производот на оксидацијата, дехидроаскорбатот излегува од стромата. На ваков начин, аскорбат глутатионскиот циклус, а во помала мера и ксантофилниот циклус го трошат вишокот на NADPH. Со тоа се воспоставува поволен однос помеѓу ATP/NADPH во стромата.

При линеарниот транспорт на електрони, водата оксидира и се ослободува O_2 , а потоа O_2 повторно се редуцира во вода со помош на електроните кои минуваат низ електрон-транспортниот синџир ($2H_2O + O_2^{\bullet-} \rightarrow 2H_2O^{\bullet} + O_2$), процес означен како **циклус вода-вода** (Asada, 1999). Вкупните реакции во циклусот вода-вода имаат значајна физиолошка функција за заштита на PSII, PSI, како и на ензимите од редуктивниот пентозен циклус од дејството на супероксидите и водородниот пероксид. Исто така, реакциите од овој циклус имаат важна улога и во продукцијата на ATP кога биохемиските реакции се бавни, како и во зголемување на односот на ATP/NADPH преку отстранување вишокот на редукциониот потенцијал. Сите овие реакции овозможуваат одвивање на процесот на фотосинтеза и при неповолни надворешни услови.