# научные открытия в области фотосинтеза, сделанные в XX в.

История изучения фотосинтеза начинается с момента обнаружения известным английским химиком Джозефом Пристли факта, что зеленые растения в отличие от животных организмов способны исправлять испорченный последними воздух, делая его вновь пригодным для поддержания жизни. Это событие относится к 1771 г.; оно произошло еще до того, как стало известно существование кислорода, открытого тем же Пристли лишь через несколько лет.

Исследователи, работавшие в XIX и в первой четверти XX столетия, рассматривали фотосинтез как одноактный процесс разложения СО2 или комплекса СО2 с хлорофиллом, происходящий под действием солнечного света.

К.А. Тимирязев (1871) впервые высказал идею о непосредственном участии хлорофилла в акте фотосинтеза и о том, что в ходе этого процесса пигмент подвергается обратимым окислительно-восстановительным превращениям.

Вильштеттер (1918) в предложенной им схеме уже постулировал наличие в фотосинтезе световой и темновой (энзиматической) стадий. Прогрессивное значение этой идеи подрывалось, однако, тем, что к темновой стадии Вильштеттер относил реакции окислительно-восстановительных превращений хлорофилла.

Все предлагавшиеся в тот период схемы исходили из того, что выделяющийся при фотосинтезе кислород образуется при разложении углекислого газа. Второе утверждение состояло в том, что фотосинтез осуществим лишь в интактной клетке, в отсутствие каких-либо нарушений ее целостности. Эту идею развивал и крупнейший биохимик первой четверти XX в.Р. Вильштеттер. Она опиралась на наблюдения, согласно которым разрушение хлоропластов приводило к исчезновению фотосинтеза. К такого же рода выводу пришел Р. Эмерсон, который в 1936 г. писал, что фотосинтез может протекать только в абсолютно нетронутом организме.

Вместе с тем в те же тридцатые годы стали появляться высказывания, согласно которым поглощаемая хлорофиллом энергия света должна быть направлена не на разложение СО2, а на разрыв одной связи ОН в молекуле воды. Эта идея основывалась на чисто априорных термодинамических расчетах, путем сопоставления величин энергии связи кислорода с углеродом в молекуле СО2 с энергией любого из квантов в видимой части спектра. Экспериментальные доказательства ее правильности были получены в 1941 г. Решающую роль при этом сыграли исследования, в которых был использован меченый кислород. Как известно, природный кислород существует в виде трех изотопов (16О, 17О и 18О), соотношение между которыми неодинаково у кислорода разного происхождения. Наименьшее содержание 18О характерно для кислорода воды, наибольшее - для кислорода углекислого газа. Среднее положение занимает по этому признаку кислород атмосферы.

В 1945 г.А.П. Виноградова и Р.В. Тейс обнаружили совпадение изотопного состава кислорода "обычной" воды и воды, синтезированной ими из "обычного" водорода и кислорода, выделяемого зеленым листом на свету (фотосинтетического).

С. Рубен и М. Камен применили несколько иной принцип. Они синтезировали СО2 и Н2О с разным содержанием 18О. Давая эти соединения хлорелле на свету, авторы установили, что варьирование изотопного состава кислорода, входящего в состав СО2, на изотопном составе кислорода фотосинтеза не сказывалось. Одновременно выявилось, что состав кислорода фотосинтеза можно было произвольно изменять путем изменения доли 18О в молекуле воды. Всем этим обосновываются представления о том, что основная масса кислорода, выделяющегося при фотосинтезе, принадлежит воде, а, следовательно, в ходе фотосинтеза имеет место не разложение СО2, а диссоциация молекулы воды, вызываемая энергией кванта света.

Для преодоления других обосновавшихся в учении о фотосинтезе неправильных представлений также понадобилась напряженная работа многих ученых. Успеху исследований способствовало широкое использование великих завоеваний физики и химии нашего времени и созданных на основе этих успехов новых, высокоэффективных методов исследования. В числе таких методов спектрометрия, включая импульсную, дифференциальную и флуоресцентную спектрофотометрию; электрометрия, включая измерения фотопроводимости, магнитные измерения, метод меченых атомов, дифференциальное центрифугирование; электронная, фазоиоконтрастная микроскопия и др. Полученные в ходе исследований материалы легли в основу современных представлений о фотосинтезе как о сенсибилизируемой хлорофиллом системе сопряженных окислительно-восстановительных реакций. Специфика фотосинтеза состоит в том, что в ходе этого процесса имеет место превращение электромагнитной энергии света в энергию химических связей конечных фотопродуктов.

Краткая хронология главнейших открытий ХХ века в области фотосинтеза выглядит следующим образом:

1930-1940 гг.Г. Фишер расшифровал структуру молекул хлорофиллов *а* и b*.*

1937 г. Г.А. Кребс описал цикл лимонной кислоты (цикл Кребса).

1937 г*. Р.* Хилл показал, что при освещении суспензии хлоропластов в присутствии акцептора электронов происходит выделение кислорода.

1937-1941 гг. К.Б. ван Ниль доказал, что при фотосинтезе происходит фоторазложение Н2О, а не СО2.

1946-1956 гг. М. Кальвин и сотр. экспериментально расшифровали основной путь углерода в процессе фотосинтеза (цикл Кальвина).

1943-1957 гг. Р. Эмерсон на основании экспериментальных данных (эффект усиления Эмерсона) предположил, что в световой фазе фотосинтеза функционируют две пигментные системы.

фотосинтез открытие тимирязев пристли

1960 г.Р.Б. Вудворд и М. Штрель осуществили синтез молекулы хлорофилла.

1966 г. М.Д. Хетч и К.Р. Слэк экспериментально обосновали С4-путь фотосинтеза (Полевой, 1989).

**Открытие двух фаз процесса фотосинтеза.** Голландский микробиолог К.Б. Ван Ниль, изучая особенности бактериального фотосинтеза и сравнивая его с фотосинтезом у растений, в 1937-1941 гг. пришел к заключению, что первична фотохимическая реакция фотосинтеза состоит в диссоциации воды, а не в разложении СО2. Способные к фотосинтетической ассимиляции СО2 бактерии (за исключением цианобактерий) нуждаются в восстановителях типа Н2S, Н2, СН3 и других и не выделяют в процессе фотосинтеза кислород. Такой тип фотосинтеза был назван *фоторедукцией.* Ван Ниль пришел к выводу, что для пурпурных или зеленых серобактерий общее уравнение фотосинтеза может быть представлено следующим образом:

СО2 + H2S свет [СН2О] + Н2О + S2

или в общей форме:

CO2 + 2H2A свет [CH2О] + H2O + 2А,

где Н2А - окисляемый субстрат (донор водорода). Он предположил, что для высших растений и водорослей Н2А - это Н2О, а 2А - это Од.

Тогда первичным фотохимическим актом в фотосинтезе растений должно быть разложение воды на окислитель [ОН] и восстановитель [H] Затем первичный восстановитель [Н] восстанавливает СО2, а первичный окислитель [ОН] участвует в реакции, в которой высвобождаетсяО2и снова образуется Н2О.

В соответствии с этим предположением полное уравнение фотосинтеза, по ван Нилю, можно записать так:

СО2 + 4Н2О свет [СН2О ] + ЗН2О + О2.

хлорофилл

Идеи ван Ниля были поддержаны результатами опытов английского физиолога растений Р. Хилла, который в 1937 г. показал, что изолированные хлоропласты под действием света способны разлагать воду и выделять кислород в присутствии акцепторов электронов (феррицианида, бензохинона и др.). Это явление получило название *реакции Хилла.* Согласно Хиллу, процесс разложения воды осуществляется в три этапа:

свет

4Н2О 4Н+ + 4ОН- (фотолиз)

хлорофилл

4ОН- → 2Н2О + 4ē + О2

О

О

ОН

ОН

+ 4Н+ + 4ē → 2

бензохинон

гидрохинон

2

Прямые экспериментальные доказательства того, что кислород при фотосинтезе освобождается именно из воды, были получены в 1941 г. независимо в СССР и в США.А.П. Виноградов и Р.В. Тейс с помощью масс-спектрометра показали, что отношение 16О: 18О в кислороде, выделяющемся при фотосинтезе, соответствует соотношению этих изотопов в воде, а не в диоксиде углерода (Лебедев, 1960).

# Открытие пигментов пластид и установление структуры и состава хлорофиллов

Пигменты - важнейший компонент аппарата фотосинтеза. Изучение растительных пигментов резко ускорилось благодаря работам русского физиолога растений М.С. Цвета. Пытаясь найти способ разделения пигментов на индивидуальные вещества, Цвет в 1901 - 1903 гг. открыл принципиально новый метод, который он назвал *адсорбционной хроматографией.* Через колонку с сорбентом пропускается растворитель с растворенными веществами. Так как вещества различаются по степени адсорбции, они перемещаются по колонке с разной скоростью. В результате происходит разделение веществ. Этот прием широко используется в современной биохимии, химии и в некоторых отраслях промышленности. С помощью хроматографического метода Цвет обнаружил два хлорофилла - *а* и *b* и разделил желтые пигменты листа на три фракции (Рубин, 1975).

Пигменты пластид относятся к трем классам веществ: хлорофиллам, фикобилинам и каротиноидам. Впервые хлорофилл в кристаллическом виде был описан русским физиологом и ботаником И.П. Бородиным в 1883 г. В дальнейшем оказалось, что это не сам хлорофилл, а несколько видоизмененная его форма - этилхлорофиллид. Польские биохимики М. Ненцкий и Л. Мархлевский (1897) обнаружили, что основу молекулы хлорофилла, как и гема гемоглобина, составляет *порфириновое кольцо.* Таким образом было показано принципиальное структурное сходство этих пигментов у растений и животных. Немецкий химик Р. Вильштеттер в 1906-1914 гг. установил элементарный состав *хлорофилла а -* C55H72О5N4Mg и *хлорофилла b -* C55H70О6N4Mg, а немецкий биохимик Г. Фишер в 1930-1940 гг. полностью расшифровал структурную формулу хлорофилла. В 1960 г. химики-органики Р.Б. Вудворд (США) и М. Штрель (ФРГ) осуществили искусственный синтез хлорофилла. Хлорофилл - сложный эфир дикарбоновой кислоты *хлорофиллина, у* которой одна карбоксильная группа этерифицирована остатком метилового спирта, а другая - остатком одноатомного непредельного спирта фитола. По данным А.А. Шлыка (1965), хлорофилл *b* может образовываться из вновь синтезированных молекул хлорофилла *а. (*Кретович, 1971).

Впервые реакция фотовосстановления хлорофилла была осуществлена в модельных опытах А.А. Красновским в 1948 г. Хлорофилл, растворенный в пиридине, в анаэробных условиях под действием света восстанавливается аскорбиновой кислотой или другими донорами электронов. При этом образуется восстановленная ("красная") форма хлорофилла. После выключения света реакция идет в обратном направлении. Фотовосстановленный хлорофилл в свою очередь может восстанавливать различные акцепторы электронов. В той же модельной системе, но с добавлением акцептора электронов хлорофилл при освещении действует как сенсибилизатор. В этих условиях происходит восстановление NAD+, рибофлавина, хинона, Fe3+, кислорода. Эти реакции получили название "*реакций Красновского".* Из всего сказанного следует, что молекула хлорофилла благодаря структурным и физико-химическим особенностям способна выполнять три важнейшие функции:

1) избирательно поглощать энергию света,

2) запасать ее в виде энергии электронного возбуждения,

3) фотохимически преобразовывать энергию возбужденного состояния в химическую энергию первичных фотовосстановленных и фотоокисленных соединений (Полевой, 1989).

# Литература

1. Биофизика фотосинтеза / Под ред. А.Б. Рубина. М.: МГУ, 1975.
2. *Кретович В.Л.* Основы биохимии растений. М.: Высшая школа, 1971.
3. *Лебедев С.И.* Фотосинтез. Киев: УАСХН, 1960.
4. *Полевой В.В.* Физиология растений. М.: Высшая школа, 1989.
5. *Рубин Б.А.* Курс физиологии растений. М.: Высшая школа, 1976.
6. *Тарчевский И.А.* Основы фотосинтеза. М.: Высшая школа, 1970.