

А. Н. АСАНОВ, В. И. СЕВАСТЬЯНОВ, Г. Г. КОМИССАРОВ

О ЧЕТЫРЕХСТУПЕНЧАТОМ МЕХАНИЗМЕ ОКИСЛЕНИЯ ВОДЫ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

(Представлено академиком Н. Н. Семеновым 17 VI 1974)

Изучение кинетики выделения кислорода при импульсном освещении фотосинтезирующих объектов — один из перспективных методов исследования механизма фотосинтетического окисления воды (¹). Однако полученные этим методом данные оказались настолько трудными для интерпретации, что в настоящее время не существует единого мнения даже о числе фотореакций, приводящих к образованию O_2 (²⁻⁴).

Мы надеемся, что некоторые особенности изученного нами субъекта (*Chlorella rupeoidosa*) позволят внести определенную ясность в вопрос о числе фотореакций, необходимых для окисления воды до O_2 .

Измерения проводились в среде Тамийя, используемой для выращивания водорослей (рН 6, 8; 21–23°). Относительное количество O_2 , выделя-

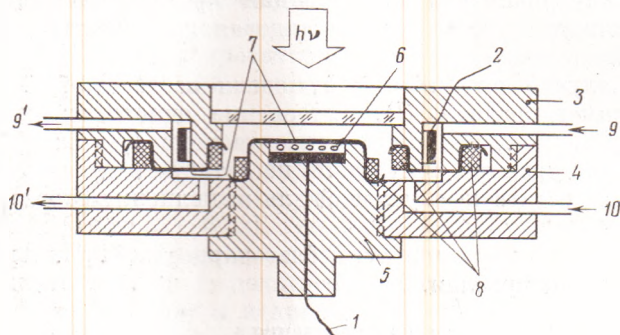


Рис. 1. Электрохимическая ячейка. 1 — рабочий платиновый электрод, 2 — хлорсеребряный электрод. 3 — верхний фланец, 4 — нижний фланец, 5 — втулка с рабочим электродом, 6 — образец, 7 — диализные мембраны, 8 — фиксирующие кольца, 9, 9' — проток 0,1 N KCl, 10, 10' — проток раствора Тамийя. (Ячейка выполнена из органического стекла).

ющегося под действием короткого светового импульса, регистрировалось полярографическим методом, описанным Жолио (⁵). Разработанная нами конструкция электрохимической ячейки (рис. 1) позволяет избежать освещения AgCl/Ag-электрода. Во время измерений потенциал платинового электрода (площадь ≈ 12 мм²) поддерживался на уровне 0,7 в относительно AgCl/Ag-электрода. Переменная составляющая сигнала с сопротивления нагрузки 1 ком усиливалась микровольтметром У2-6 (полоса 20 гц — 30 кгц) и поступала на вход первого канала осциллографа С1-42. Второй луч управлялся фотодиодом ФД-2, который освещался частью светового потока. Источником света служила стробоскопическая лампа ИСП-400. Длительность вспышки на уровне $1/3$ амплитудного значения 1,5 мсек., на уровне $1/10$ 7 мсек. Электрическая энергия вспышки 2,5 дж. Интервал следования вспышек от 0,05 сек. до 10 сек. Предварительные измерения по-

казали, что при освещении платинового электрода полным светом ксеноновой лампы возникает фотоотклик, сравнимый по величине с исследуемым сигналом. Длина волны фотоотклика примерно равна 450 нм и легко устраняется фильтром ЖС-18. Нам не удалось полностью избавиться от электрических наводок, возникающих при разряде емкости через лампу. Однако импульс тока наводки имеет малую длительность ($\sim 10^{-5}$ сек.) го

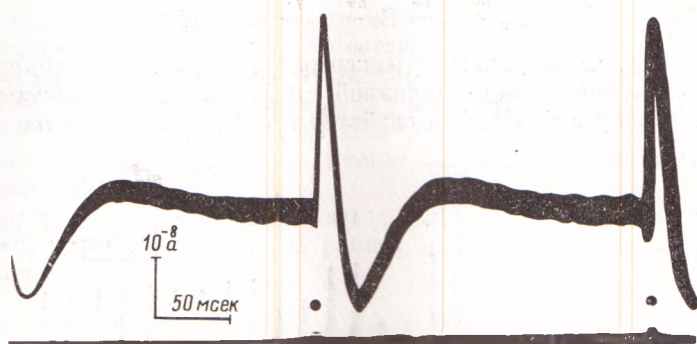


Рис. 2. Осциллограмма импульса фотоотклика

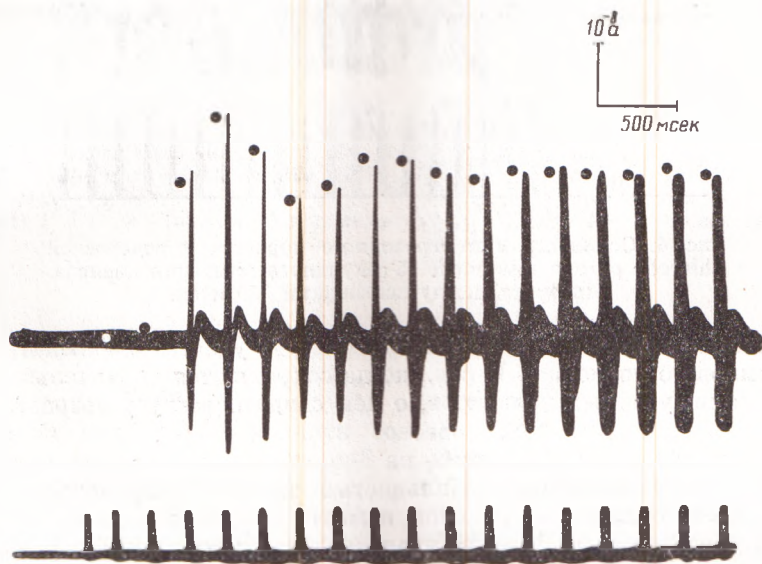


Рис. 3. Осциллограмма переходного процесса у водорослей *Chlorella rupeoidosa* после 60-минутного темнового периода. Интервал между вспышками 240 мсек. Нижний луч — импульсы с фотоиода. Точки — расчетные данные при $[S_0]_0=1,0$, $[S_1]_0=[S_2]_0=[S_3]_0=0$; $\alpha_{0-2}=0,2$, $\alpha_3=0,15$; $\beta_{0,1}=0,15$, $\beta_2=0,1$, $\beta_3=0$

сравнению с полезным сигналом ($\sim 10^{-1}$ сек.) и при соответствующем выборе яркости луча не оставляет следа на экране осциллографа.

Импульс фотоотклика (рис. 2) после дифференцирования усилителем имеет длительность около 150 мсек. Амплитуда импульса прямо пропорциональна количеству O_2 , выделяющегося на вспышку (⁵).

На рис. 3 показан переходный процесс, наблюдавшийся после 60-минутного темнового периода. Особенность изученного нами объекта заключается в том, что в ряду Y_n (количество O_2 , выделяющегося на n -ю вспышку) максимум приходится на 4-ю, а не на 3-ю вспышку (^{2, 3}). Выделение O_2 на 1-ю вспышку не обнаруживается, на 2-ю вспышку выход O_2 составляет 0,06 от стационарного уровня, на 3-ю 0,89, на 4-ю 1,31 и т. д. с

затуханием колебаний с периодом 4. Периодичность 4 наблюдается и при измерениях люминесценции ⁽³⁾ и, по-видимому, является фундаментальным свойством рассматриваемого процесса ⁽¹⁾. Это свидетельствует о необходимости 4 фотореакций для окисления воды до O₂. Таким образом, полученные нами результаты подтверждают в общих чертах схему, предложенную Коком:



Однако Коку, наблюдавшему максимум Y_n при $n=3$, пришлось сделать предположение о неограниченной стабильности промежуточного состояния S_1 , наряду с S_0 ⁽²⁾. Это свойство отсутствует у изученного нами

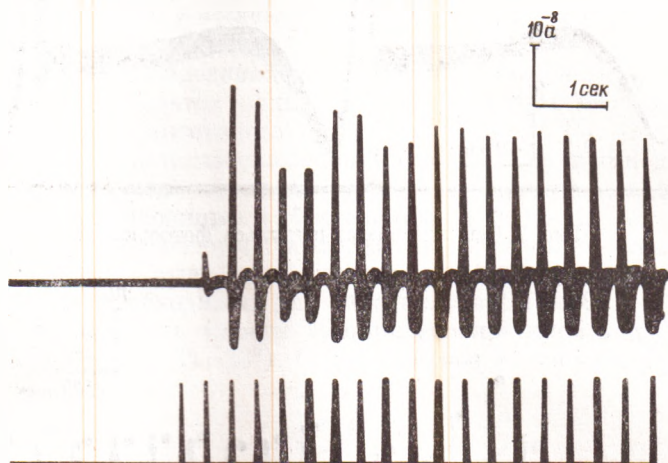


Рис. 4. Оциллограмма переходного процесса у водорослей *Chlorella pyrenoidosa* после 15-секундного темнового периода. Интервал между вспышками 350 мсек.

объекта. Максимум на 3-ю вспышку (рис. 4) удается наблюдать только после темнового периода ≤ 30 сек., когда сохраняются значительные количества промежуточных продуктов, о чем свидетельствует возрастание Y_2 . Следовательно, только неравновесное начальное состояние может привести к максимальному выходу O₂ на 3-ю вспышку. Как показано в ⁽²⁾, система с неограниченной стабильностью одного из промежуточных состояний $S_1 \div S_3$ обладает «эффектом памяти» предварительного освещения 1, 2 или 3 вспышками. Нам не удалось обнаружить подобный эффект у изученного объекта. Достаточно 5-минутного темнового интервала, чтобы полностью восстановилась обычная (рис. 3) форма переходного процесса. Итак, изученный нами объект обладает единственным стабильным состоянием S_0 . Теоретический анализ подтверждает, что схема (1) с начальными условиями $[S_0]_0=1,0$, $[S_1]_0=[S_2]_0=[S_3]_0=0$ и с параметрами неидеальности: «пропуски» $\alpha_{0-2}=0,2$, $\alpha_3=0,15$, «дубли» $\beta_{0,1}=0,15$, $\beta_2=0,1$, $\beta_3=0$ (см. ⁽²⁾) — довольно хорошо согласуется с полученными экспериментальными результатами (рис. 3).

Двухкратное уменьшение длительности вспышек, варьирование интервала между ними от 100 до 400 мсек., изменение световой энергии вспышек в два раза и улучшение гомогенности освещения мало влияют на форму переходного процесса, т. е. неидеальность поведения системы обусловлена в основном самим объектом.

Результаты настоящей работы показывают, что характер затухания колебаний и сама форма переходного процесса определяются видом биологического материала и единственным универсальным свойством является периодичность 4.

Расхождение данных, полученных импульсным методом разными авторами, можно объяснить в рамках схемы реакционного центра фотосистемы II, предложенной в (6). Реакционный центр представляет собой типичную многозарядную ловушку (7) для дырок, которая характеризуется в данном случае 4 энергетическими уровнями $S_0 \div S_3$. Глубина ловушки убывает в ряду $S_0 \div S_3$ и определяет стабильность соответствующего состояния. Расположение уровней ловушки относительно потолка валентной зоны связано с равновесным потенциалом окисления воды Φ_{H_2O/O_2} . В свою очередь, величина Φ_{H_2O/O_2} зависит от состава электролита, который, по-видимому, неодинаков у различных видов биологических объектов. Если глубина ловушки для первой дырки $\Delta E_{S_i} \gg kT$, стабильность состояния S_i практически неограничена (2). Если же $\Delta E_{S_i} \sim kT$, $i=1, 2, 3$, то единственным стабильным состоянием будет S_0 (пустая ловушка), что наблюдалось нами у изученного объекта.

Авторы выражают глубокую благодарность академику Н. Н. Семенову за интерес, проявленный к этой работе, и ценные замечания, сделанные при обсуждении.

Институт химической физики
Академии наук СССР
Москва

Поступило
17 VI 1974

Московский физико-технический институт
Долгопрудный Московской обл.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ G. Cheniae, Ann. Rev. Plant Physiol., v. 21, 467 (1970). ² B. Kok, B. Forbush, M. McGloin, Photochem., Photobiol., v. 11, 457 (1970); v. 14, 307 (1971). ³ P. Toliot et al., Photochem., Photobiol., v. 40, 309 (1969); v. 14, 287 (1971). ⁴ В. М. Лынагов, В. М. Кутюрин и др., ДАН, т. 210, 1227 (1973). ⁵ P. Toliot, A. Toliot, Biochim. et biophys. acta, v. 153, 625 (1966). ⁶ А. Н. Асанов, В сборн. Пробл. космич. биол., т. 31, 289 (1974). ⁷ С. М. Рыбкин, Фотозлектрические явления в полупроводниках, 1963, гл. 7.