

4.4. Темновая стадия фотосинтеза.

Цель: изучить темновую стадию фотосинтеза, механизмы C_3 -, C_4 -пути фотосинтеза и САМ-фотосинтеза, фотодыхания, пути повышения продуктивности фотосинтеза.

Вопросы для рассмотрения.

1. C_3 -путь фотосинтеза (цикл Кальвина), его механизмы.
2. Фотодыхание, его биологическое значение.
3. C_4 -путь фотосинтеза.
4. Особенности САМ-фотосинтеза.
5. Продукты фотосинтеза.
6. Пути повышения продуктивности фотосинтеза.

Темновая фаза фотосинтеза —

это совокупность биохимических реакций, в результате которых происходит усвоение растениями углекислого газа атмосферы (CO_2) и образование углеводов.

Ферменты, катализирующие темновые реакции растворены в строме.

C_3 -путь (цикл
Кальвина)
умеренный
климат

- Присутствует у всех!!!!

C_4 -путь,
кооперативный
фотосинтез
тропики

САМ или МОКТ
засушливые
зоны

Отличие темновой стадии у C_3 от C_4 и САМ-растений

— C_3 + доп. реакции превращения CO_2 :

- временем суток, когда эти реакции происходят,
- в каких клетках находятся вещества, участвующие в этих реакциях.

Сущность темновых реакций процесса фотосинтеза была раскрыта:

Мельвином Кальвином (Нобелевская премия в 1961г.) с сотрудниками, Бэнсоном, Басхэмом.

Вопросы, которые поставили и на которые ответили Кальвин и его сотрудники:

- ❖ какова природа соединения, являющегося первичным акцептором CO_2 ,
- ❖ какой продукт образуется непосредственно при фиксации CO_2 ,
- ❖ как этот продукт затем превращается в простые сахара?

Обстоятельства, способствовавшие успеху эксперимента М. Кальвина:

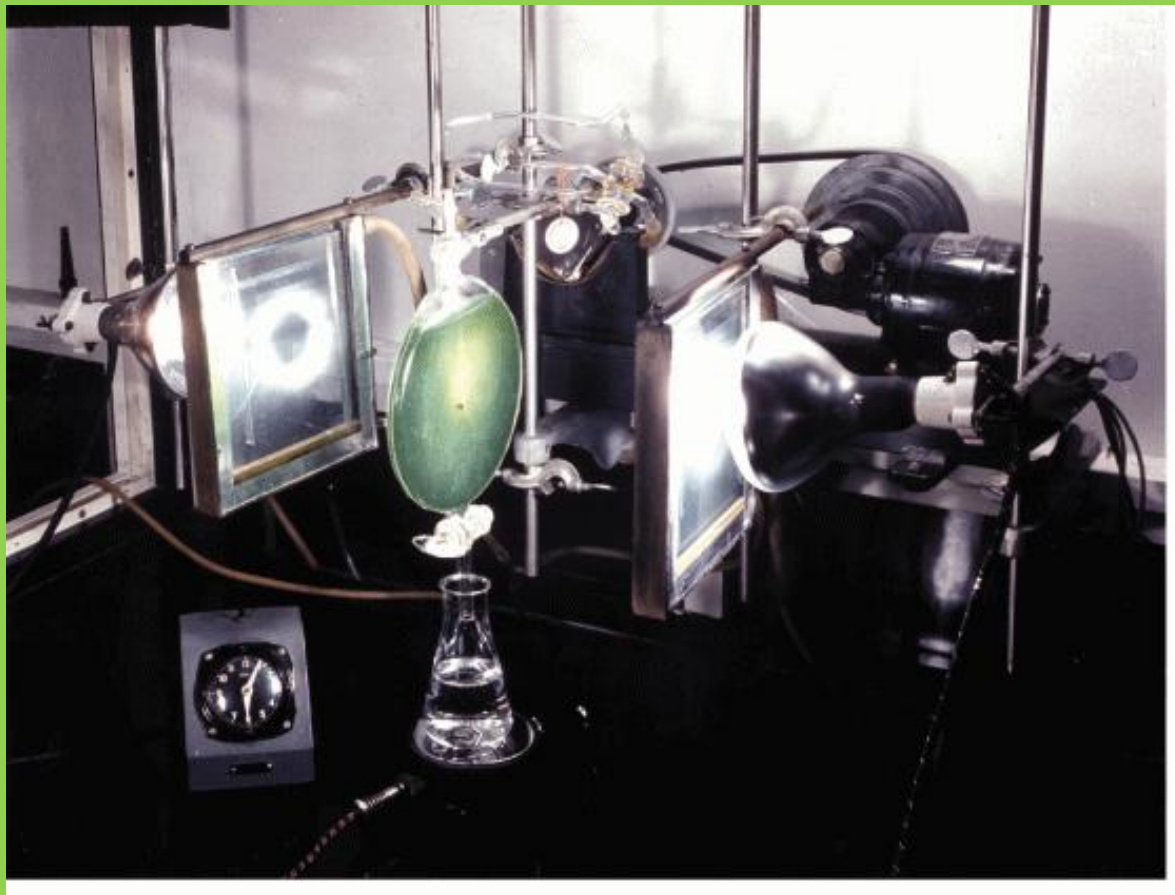
- ❖ впервые применили метод меченных атомов ($C^{14}O_2$),
- ❖ хроматографический метод разделения продуктов фотосинтеза при коротких экспозициях (освещение 1 с и более),
- ❖ использовали однородный материал – хлореллу.

Растения, на которых производили эксперимент — ячмень и шпинат.

Лоуренсовская лаборатория (Калифорния, США)

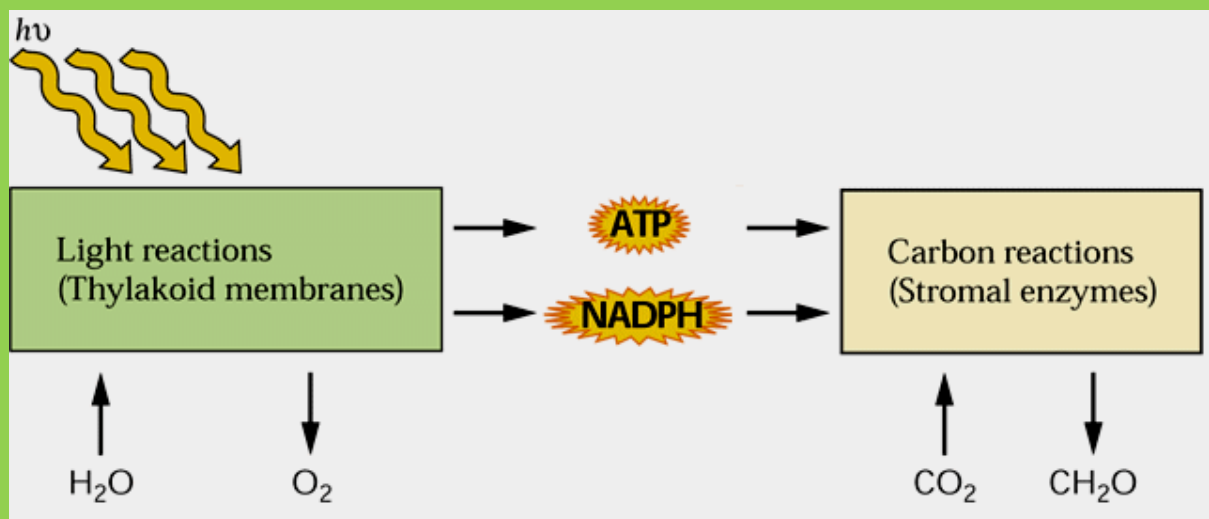
1946 – 1956

Мелвин Кальвин



- **Объект: Chlorella**
- **Методы:**
- **C(14), P(32),**
- **Двумерная хроматография**

Темновые реакции ФС



• Фиксация CO₂ – реакции карбоксилирования



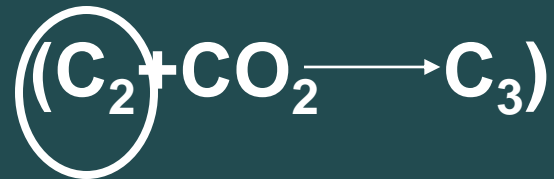
• ??? Продукт фиксации CO₂ — **первичный продукт!**

• ??? Акцептор CO₂

Зависимость времени инкубации в $C^{14}O_2$ и содержания C^{14} -меченых соединений:

- если время экспозиции было **10 мин.**, то на хроматографии обнаруживается большой набор различных меченых соединений, в том числе простые углеводы (фосфорилированные сахара), некоторые аминокислоты, все основные нуклеотиды и другие соединения;
- **при 30 с** экспозиции набор веществ получался меньший – фосфорилированные углеводы – соединения цикла Кальвина – триозы (ФГК, ФГА, ФДА), тетрозы (эритрозо-4-фосфат), пентозы (рибозо-5-фосфат, рибулозо-5-фосфат, рибулозо-1,5-бисфосфат, ксилулозо-5-фосфат), гексозы (фруктозо-1,6-бисфосфат, фруктозо-6-фосфат, глюкозо-6-фосфат), гептозы (седогептулозо-1,7-бисфосфат, седогептулозо-7-фосфат).
- **доли с** – одно соединение – фосфоглицериновая кислота (**ФГК**) – трехуглеродное соединение.

Можно было предположить, что первичным акцептором должно быть C₂-соединение



Но

- Кальвин и сотр. показали – акцепторная молекула –
- рибулозо-1,5-бисфосфат – C₅-соединение, т.е. первоначальный процесс соответствует схеме –
- $\text{C}_5 + \text{CO}_2 \longrightarrow 2\text{C}_3$.

Взаимосвязь акцептор \longrightarrow
продукт является циклической.

- Клеточный уровень меченного РБФ снижается в темноте, а уровень ФГК — повышается.

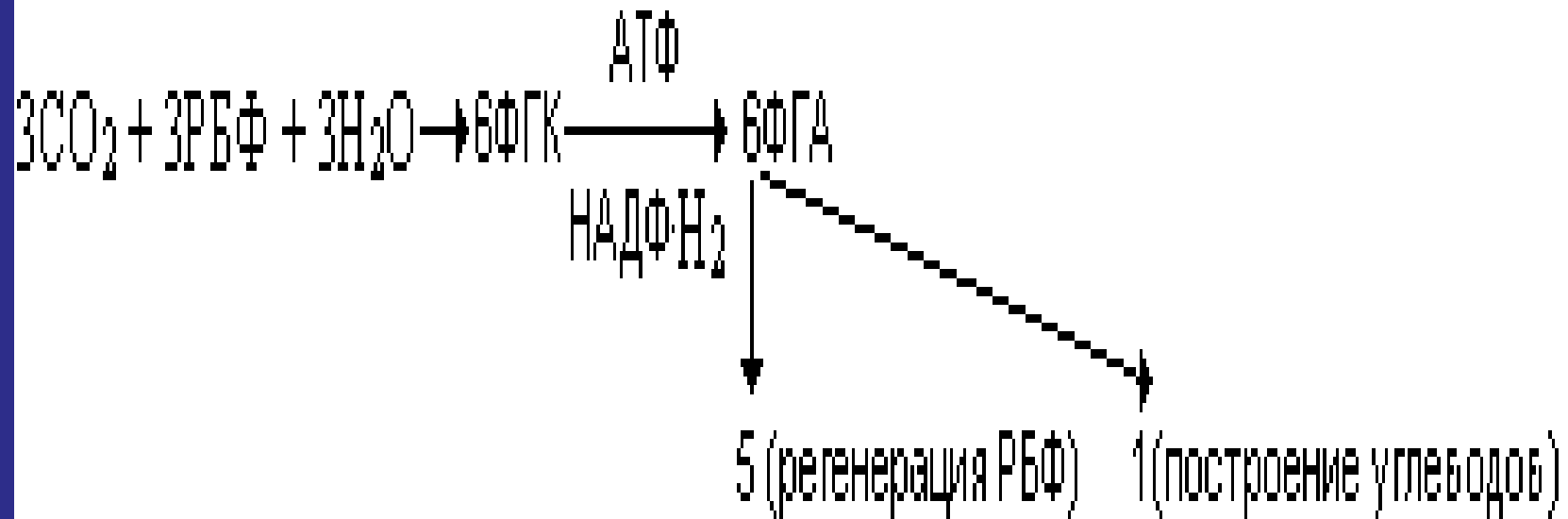
Схема опытов М. Кальвина

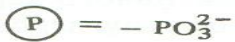
Вариант	CO ₂	Свет	ФГК	РБФ
I	+	+	+	+
II	+	-	+	+ расход
III	-	-	-	+ не изменяется

Цикл можно разделить на 3 фазы:

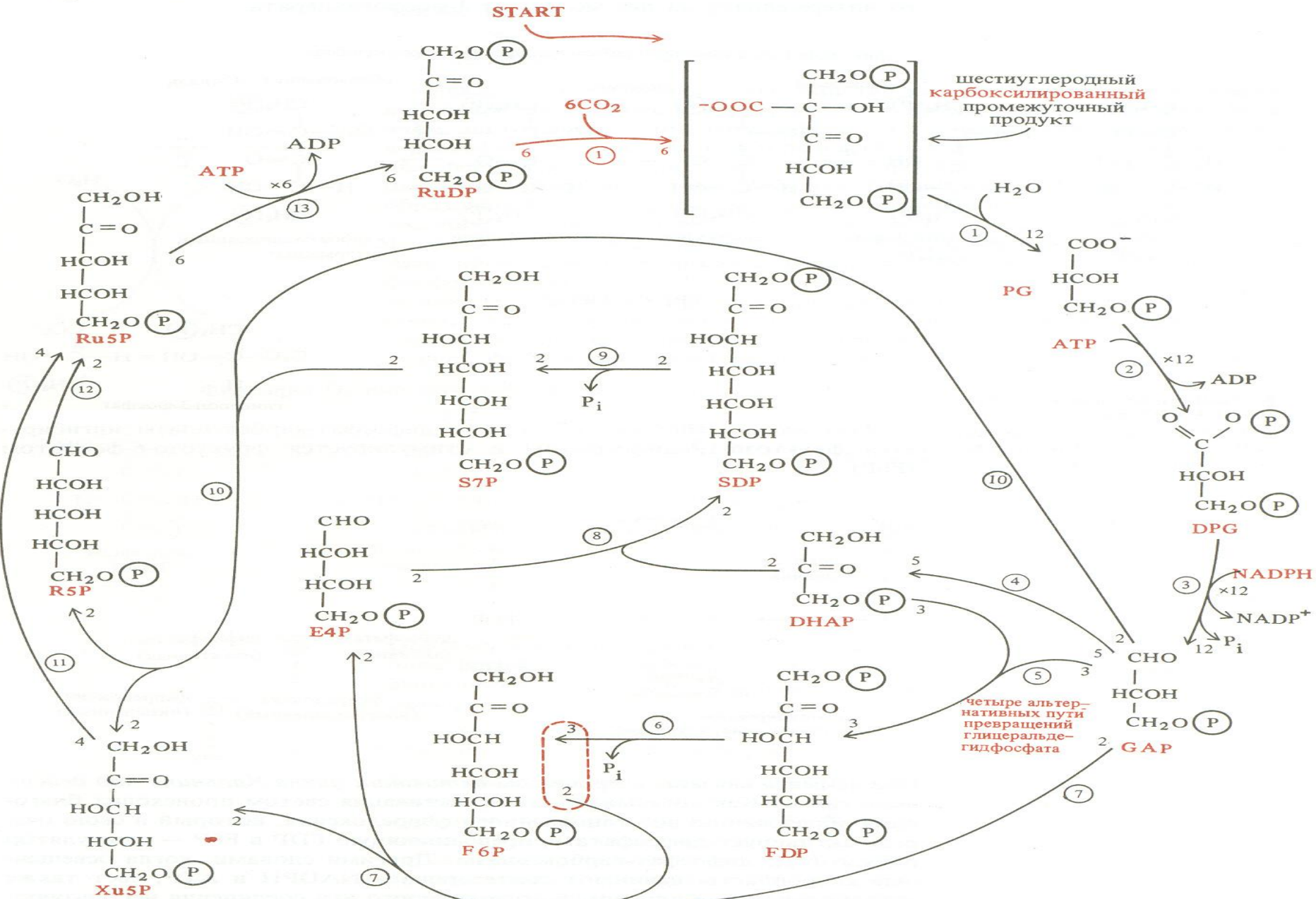
- карбоксилирование (+CO₂),
- восстановление (CO₂ до органических веществ),
- регенерация (акцепторов).

Предварительная схема темновой стадии фотосинтеза



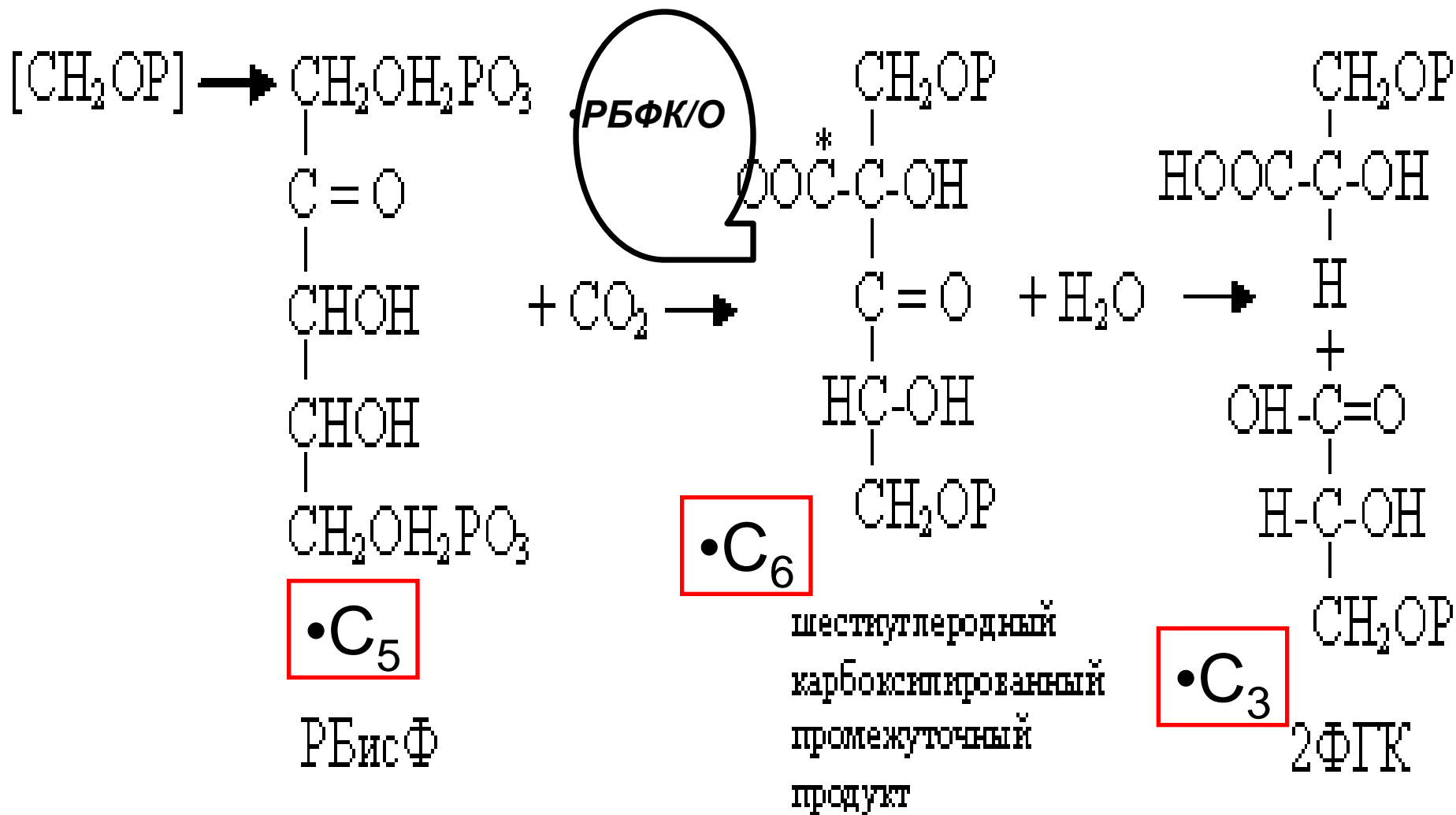


START

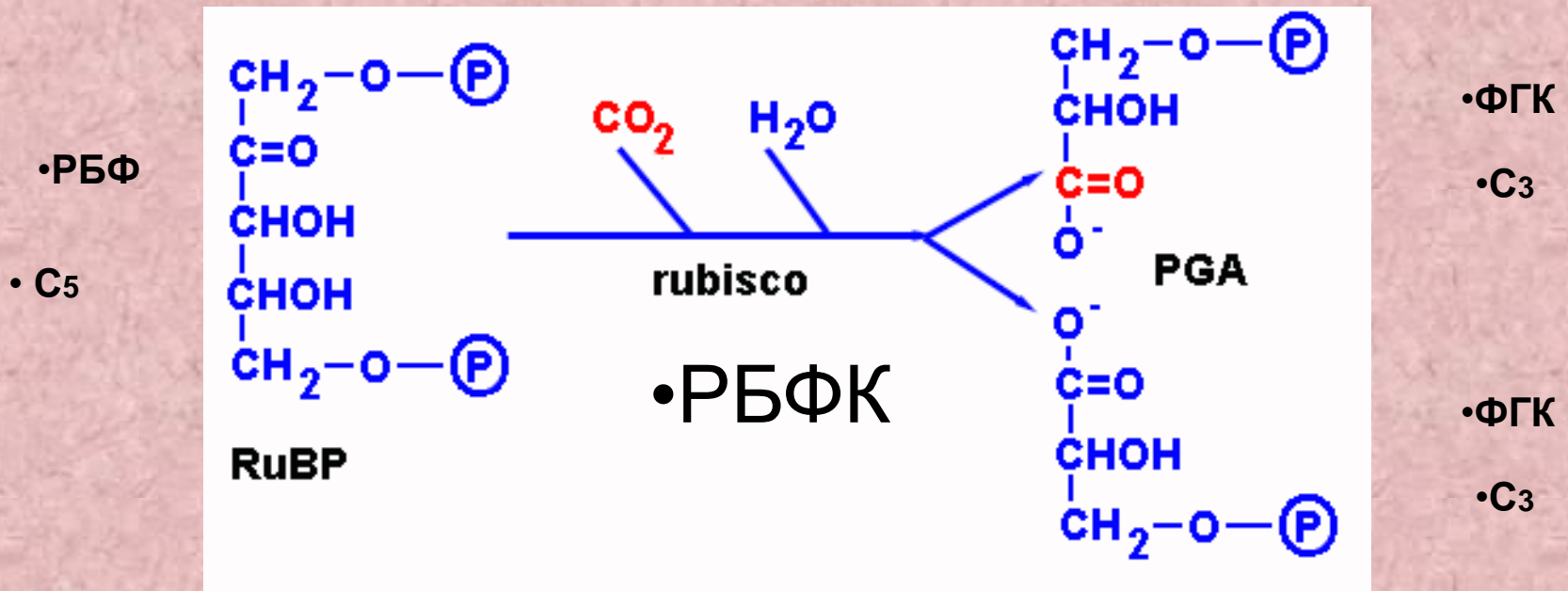


означает суммарный выигрыш одной молекулы гексозы — 3 F6P образуются и только 2 F6P расходуются в ходе фиксации 6CO₂

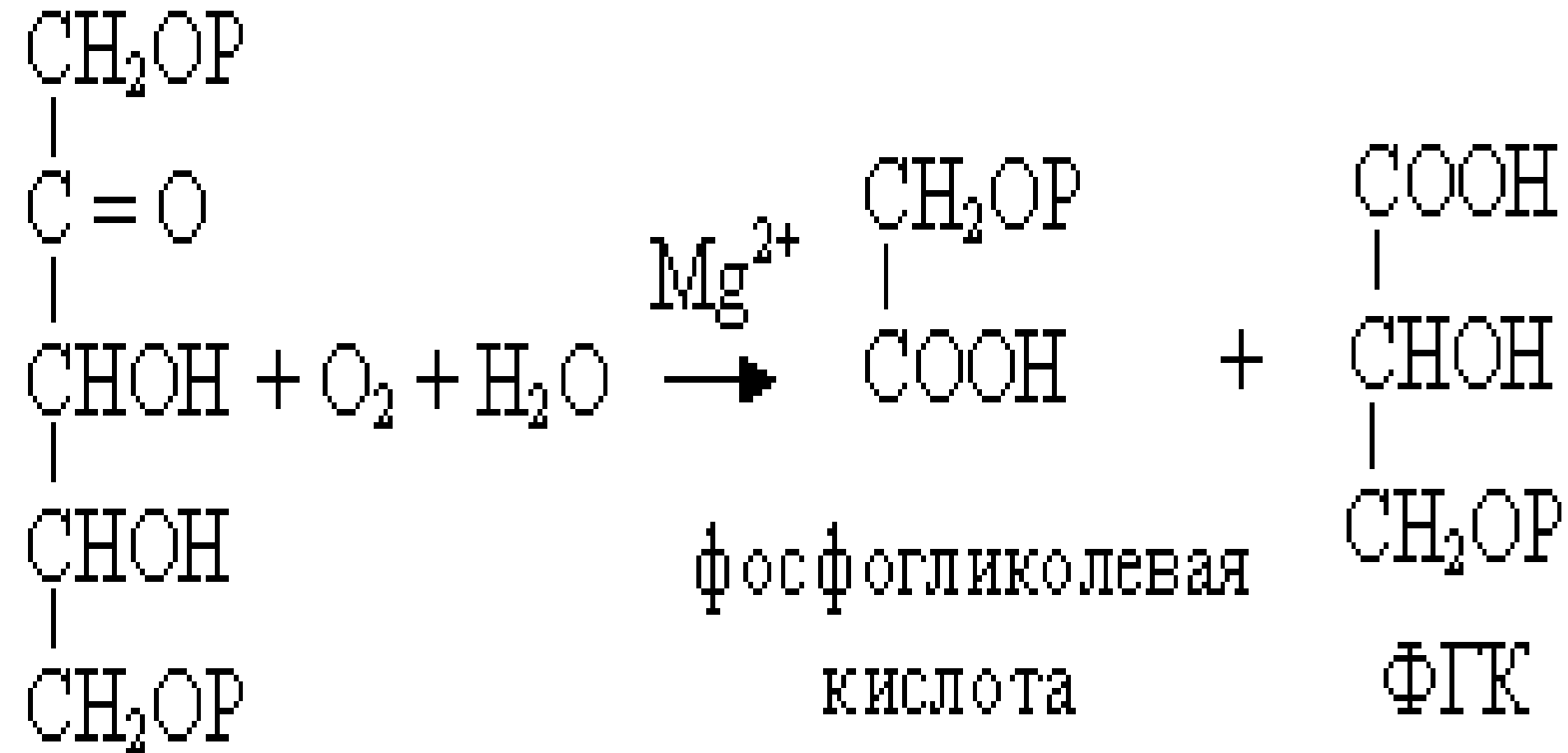
I фаза – присоединение CO₂ – карбоксилирование



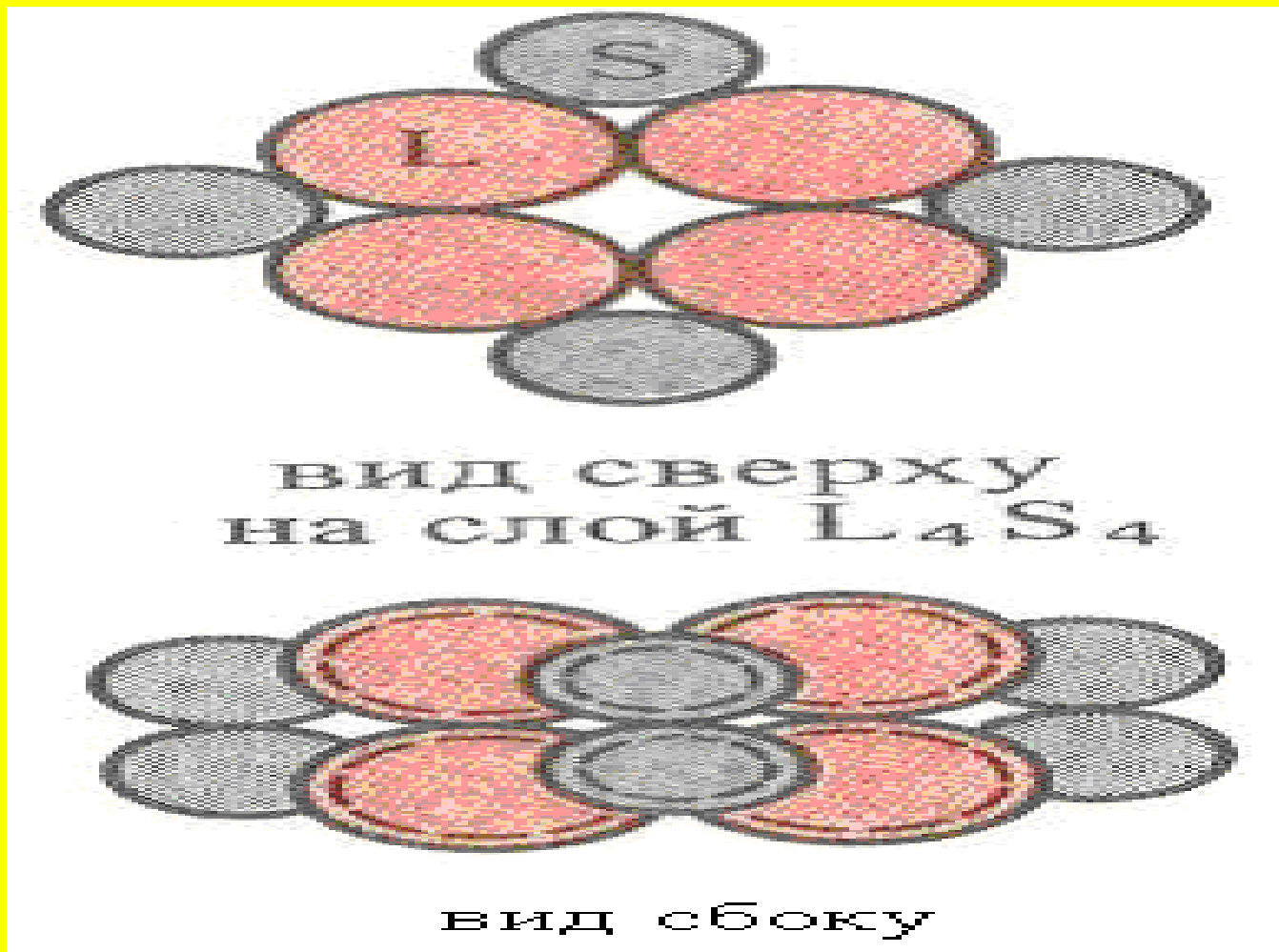
Карбоксилирование



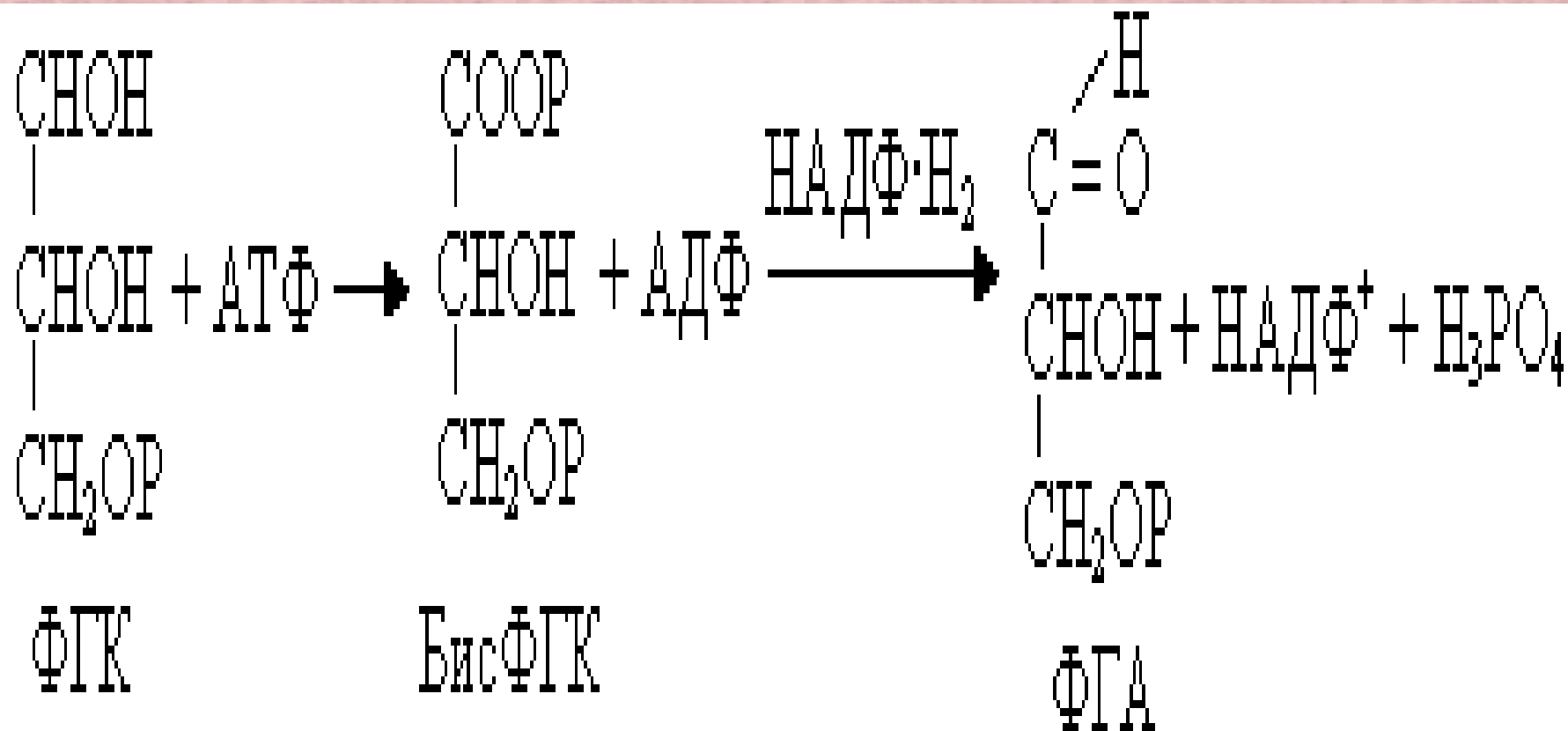
В присутствии O₂



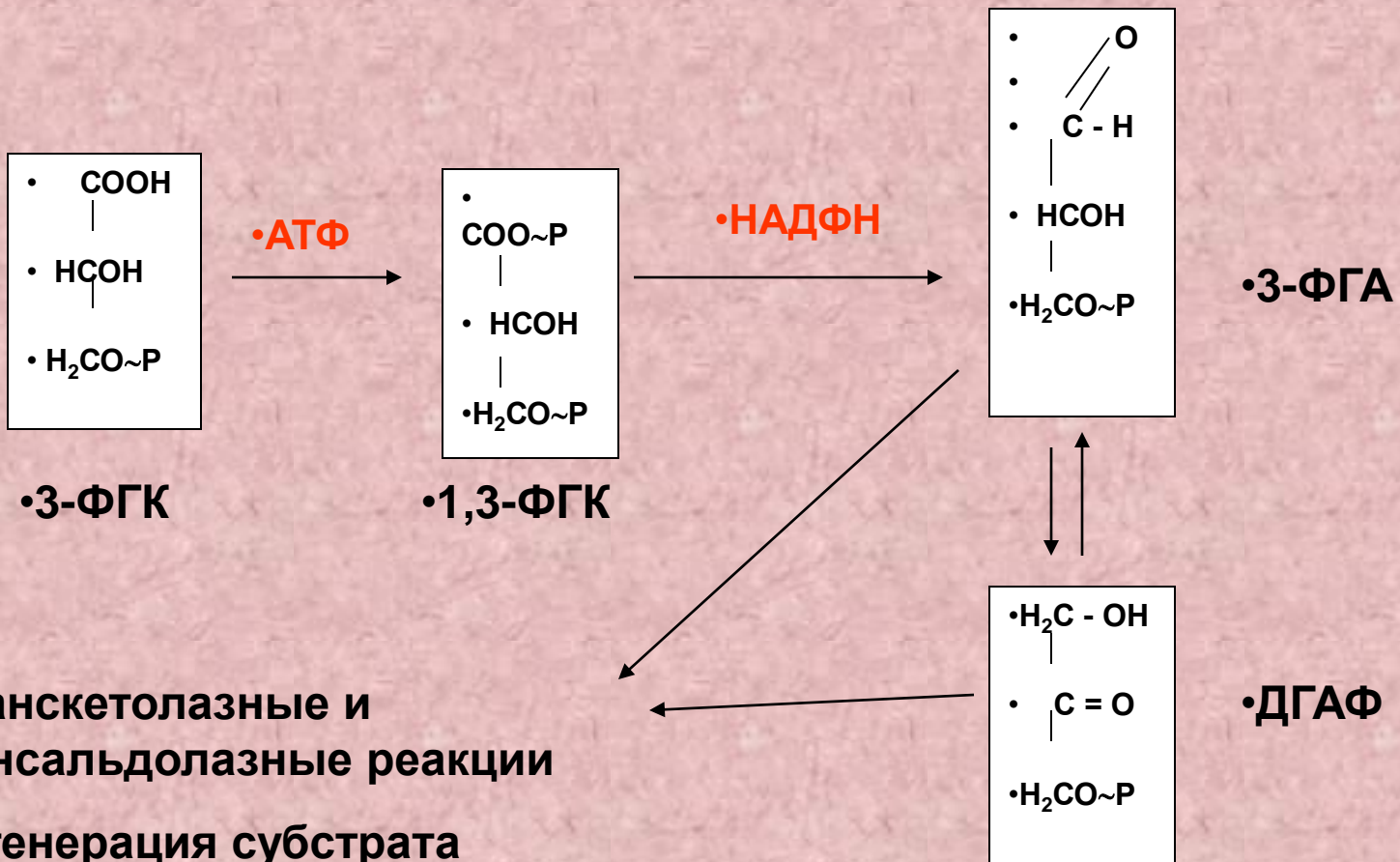
Строение РБФ-карбоксилазы- оксигеназы



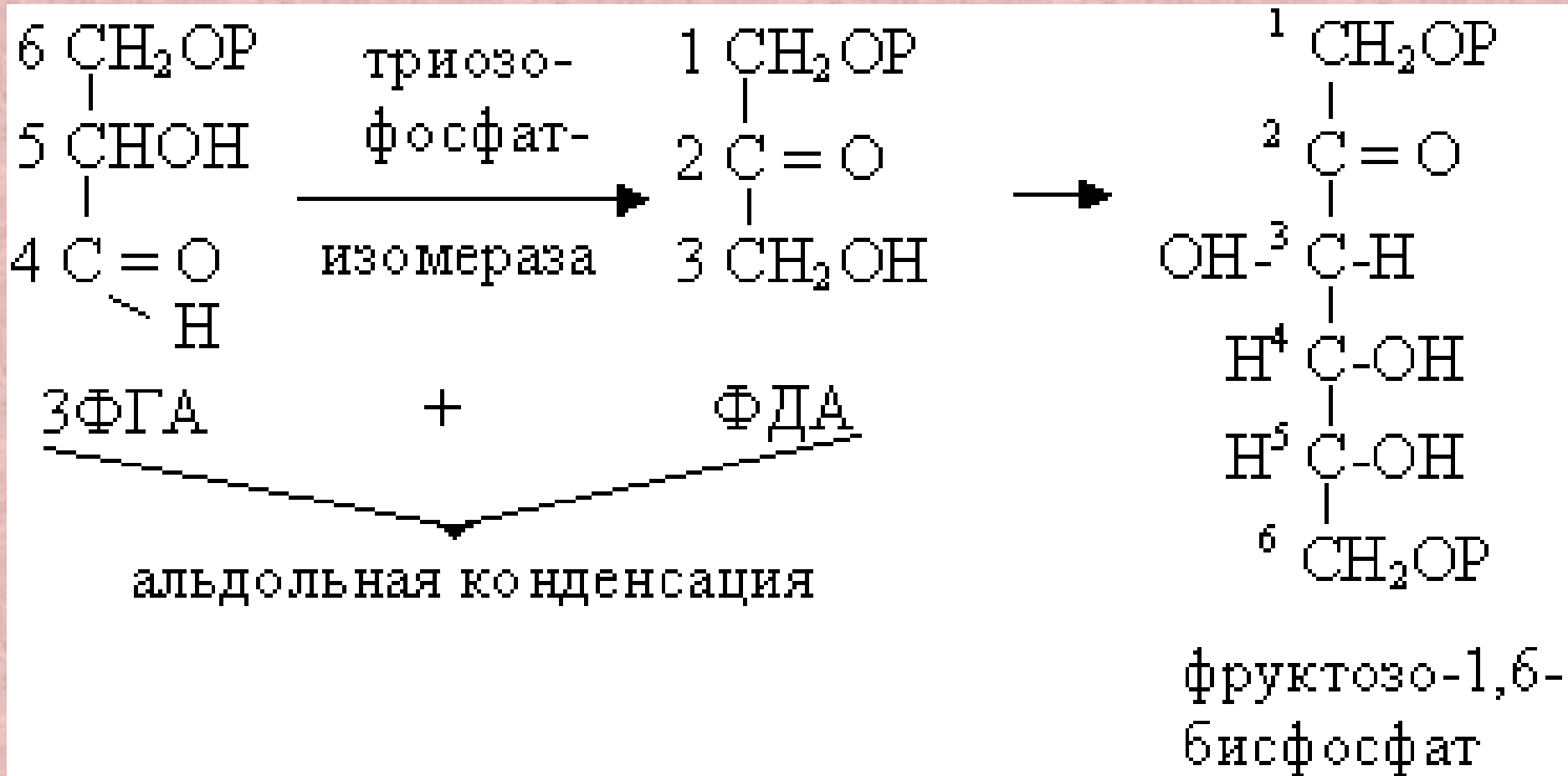
II фаза – восстановление CO₂

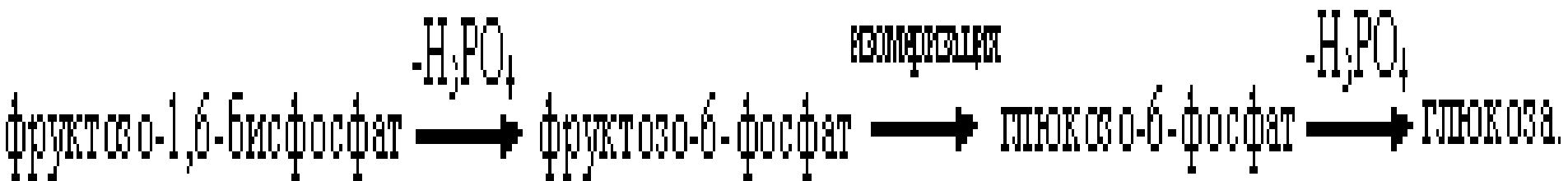


Восстановление



Синтез сахарозы:





Но существует мнение, что

Фруктозо-6-фосфат \rightarrow глюкозо-6-фосфат

-ФН

+ УТФ



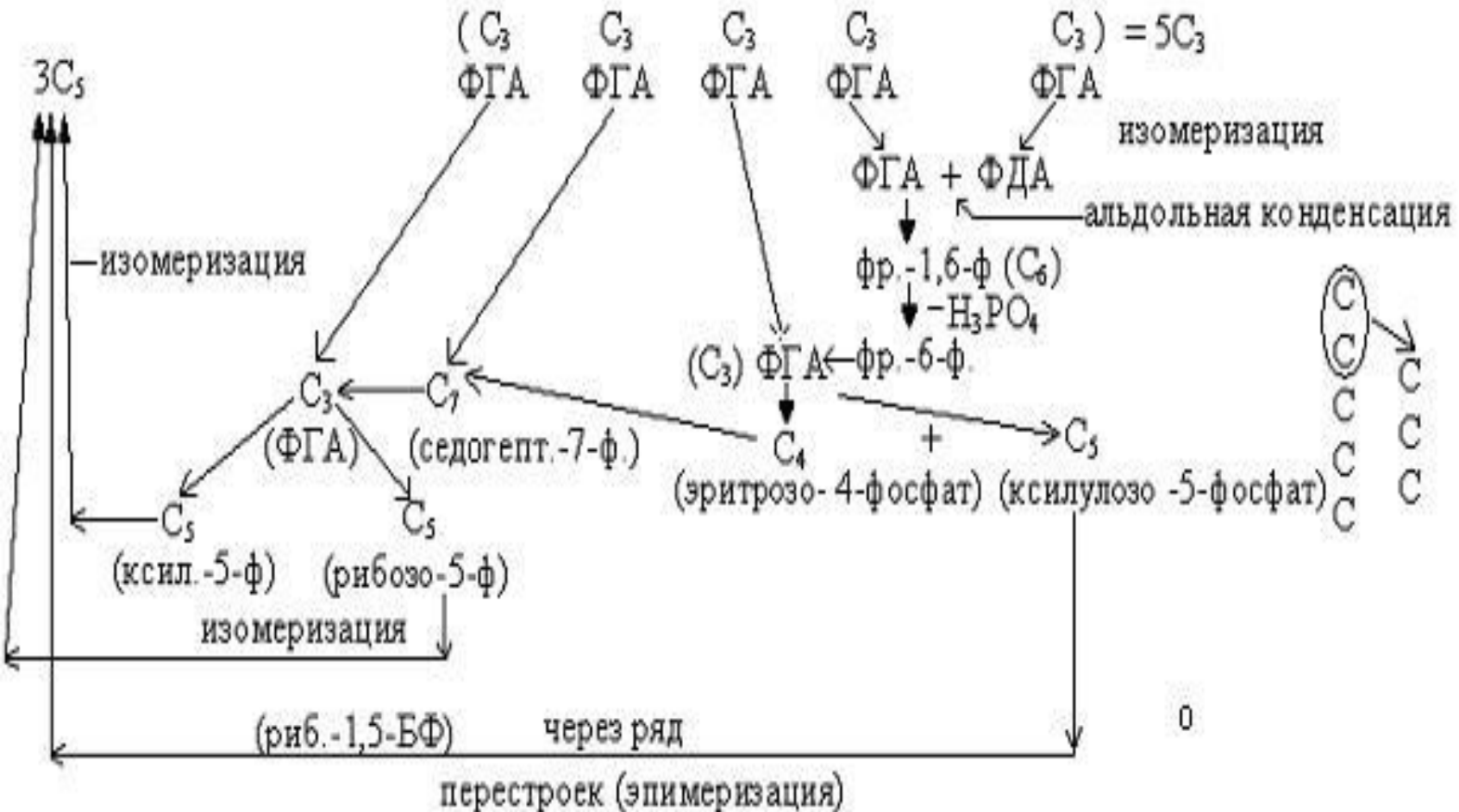
•

• УБФГл + фруктозо-6-фосфат \longrightarrow УБФ +
сахарозо-6-фосфат \longrightarrow сахароза
($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)

III фаза – регенерация РБФ



Механизм трансальдолиза и транскатализа (Рэкера и Хорекера)



Для синтеза 1 молекулы гексозы
(C₆) требуется:

- $6\text{CO}_2 + 6\text{РБФ} + 12\text{НАДФ}\cdot\text{Н} + (12+6)\text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$
фрукт.-6-фосфат + 6РБФ +
- + 12НАДФ+ + 18АДФ + 17Фн

Эффект Варбурга —

в присутствии большого количества O_2 , фотосинтез тормозится.

РБФК и РБФО (фотодыхание)

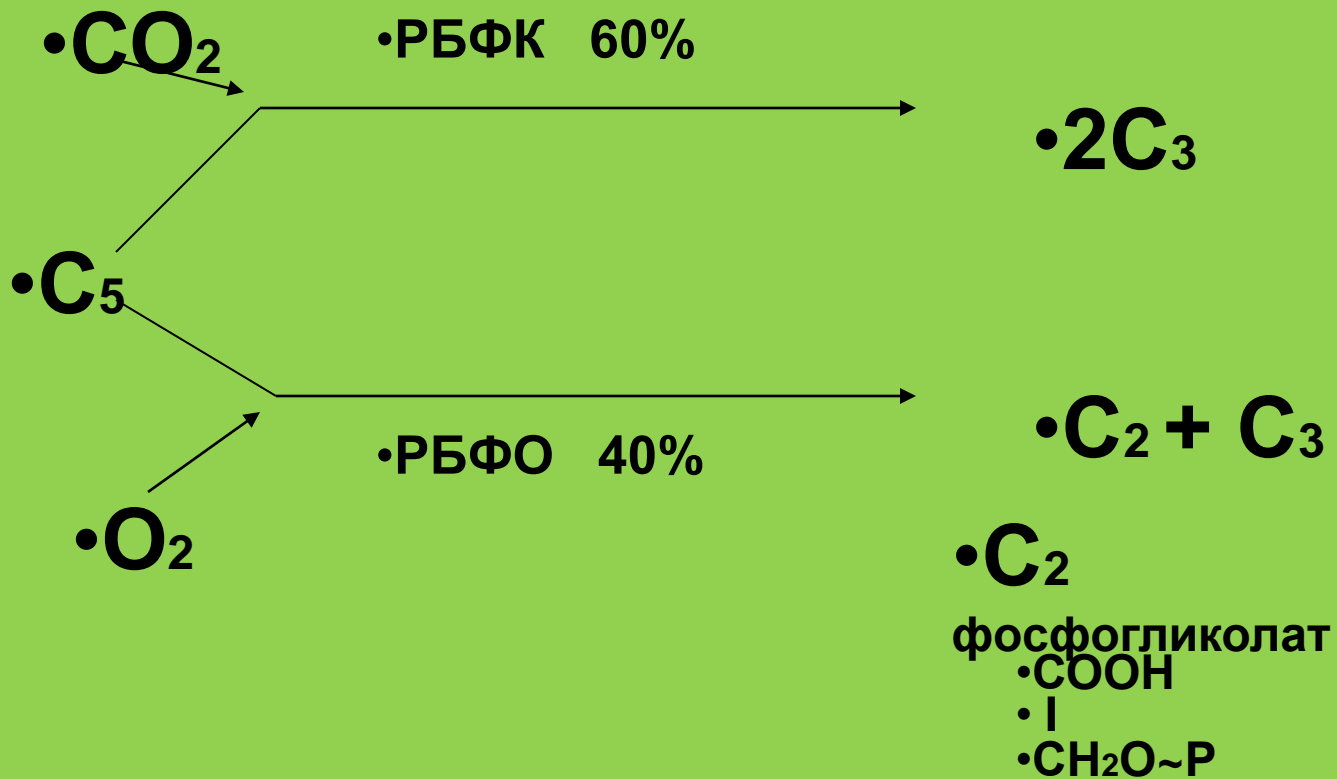
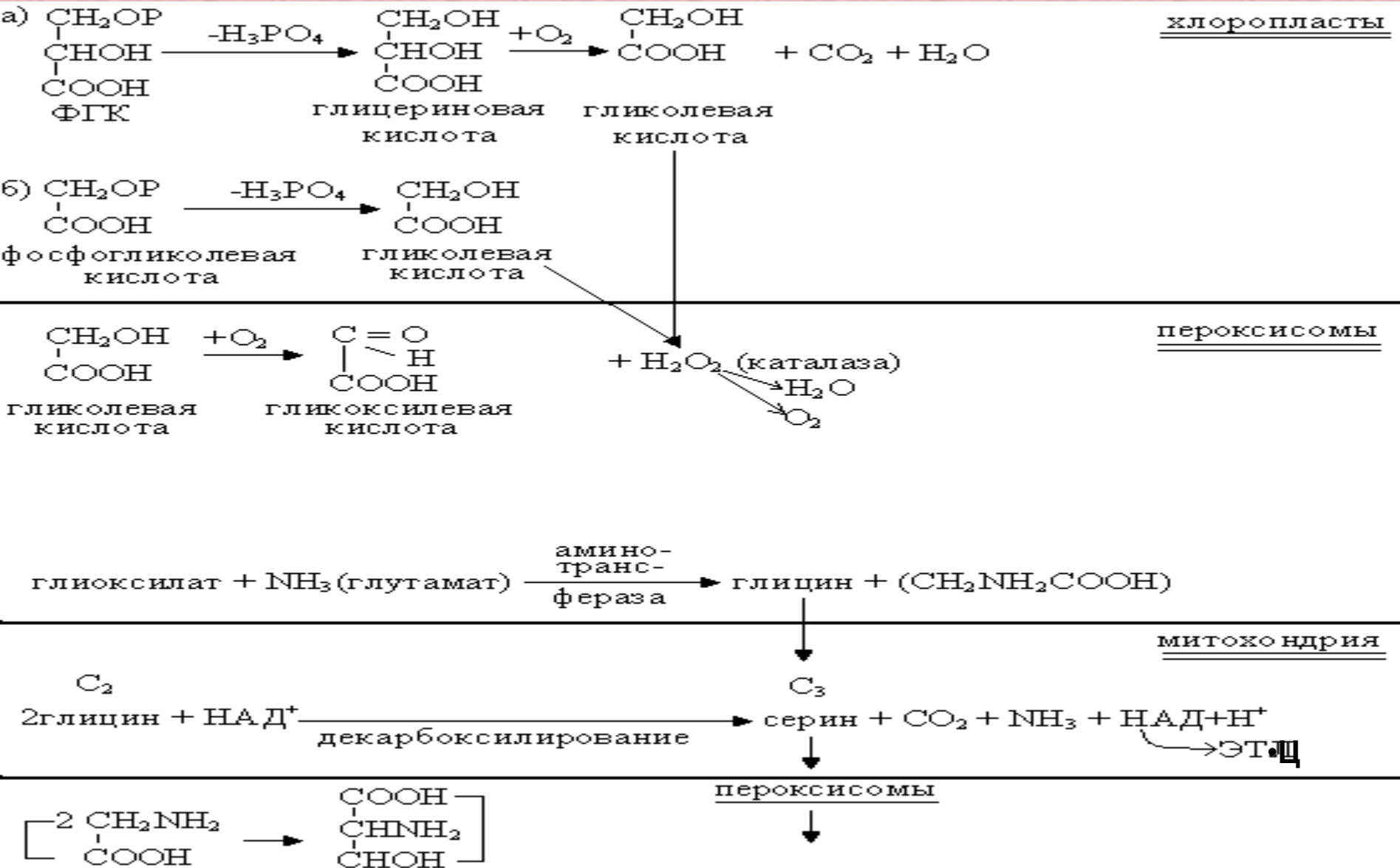
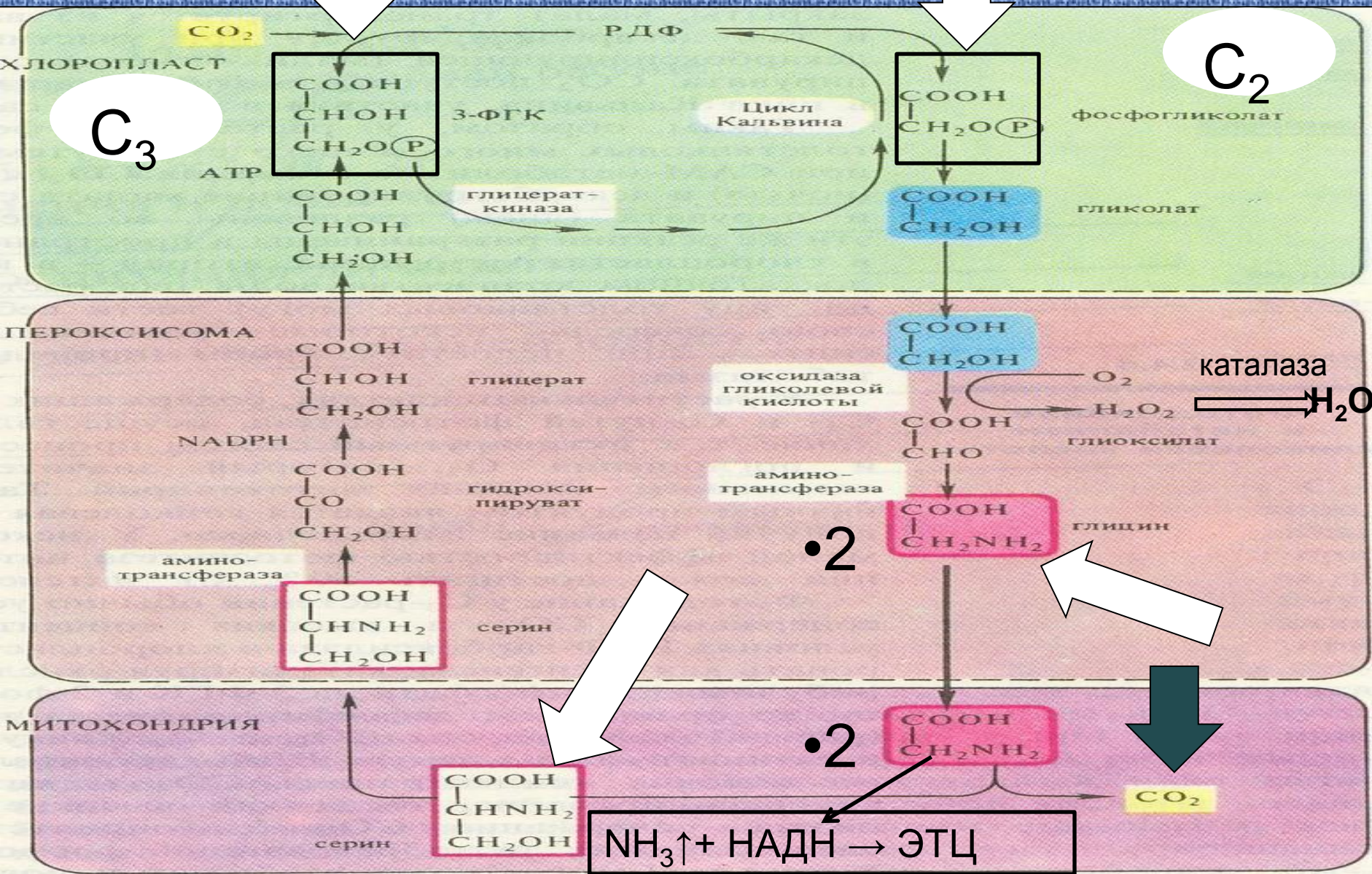


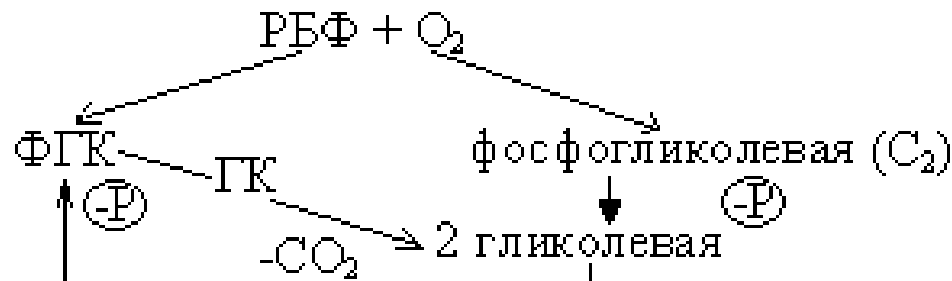
Схема фотодыхания:



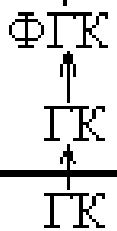
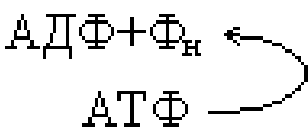
Фотодыхание и метаболизм гликолевой кислоты



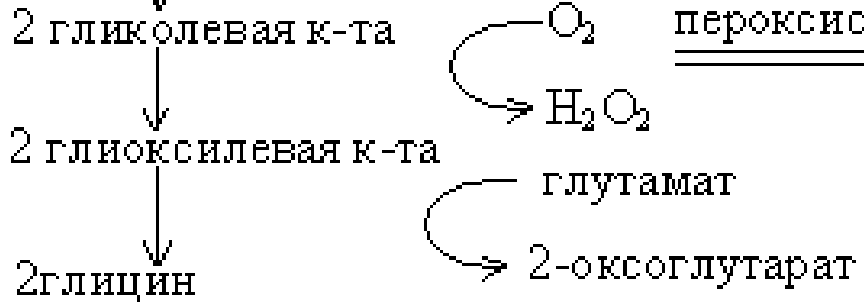
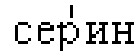
хлоропласты



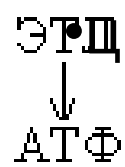
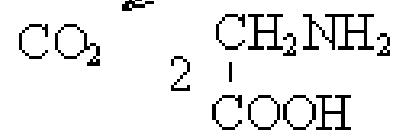
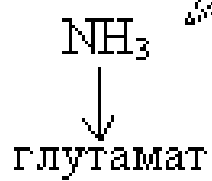
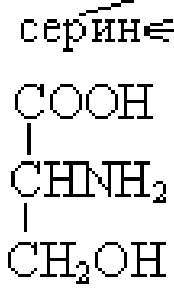
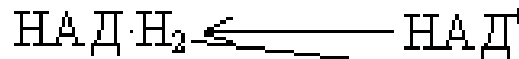
цитоплазма



пероксисомы



митохондрии



Сходство фото- и темнового дыхания— только конечные продукты

отличаются по субстратам и
локализации:

фотодыхание— окисление гликолата
в пероксисомах, темновое –
углеводы в митохондриях.

Фотодыхание у C_3 растений составляет 20—40%.

- Фотодыхание у C_4 -растений составляет 1-3%, их продуктивность в 2 раза выше, чем у C_3 -растений

Что дает растениям фотодыхание?

- 1. Так, есть мнение, что фотодыхание – бесполезный процесс, общий выход органических веществ снижается, АТФ не образуется, только когда НАДФН митохондриях → в ЭТЦ приводит к образованию АТФ. АТФ расходуется на фосфорилирование ГК до ФГК.
- 2. Согласно другого мнения, наоборот, фотодыхание:
 - а) энергетический процесс (в митохондриях – АТФ);
 - **б) накапливаются физиологически важные метаболиты – глицин, серин;**
 - в) поглощается избыток АТФ и НАДФН, который возникает при повышенном освещении;
 - г) если мало CO_2 и света устанавливается баланс между темновой и световой стадиями фотосинтеза;
 - д) фотодыхание – один из способов защиты от торможения O_2 -ом за счет его дополнительной утилизации и т.д.

C₄-путь фотосинтеза

- **C₄-путь более эволюционно поздний, встречается у почти 300 видов растений 16 семейств покрытосеменных.**

Цикл Хэтча – Слэка - Карпилова

Незговорова Л.А. 1956 – 1957

- Карпилов Ю.С. 1960 кукуруза
- Тарчевский И.А. 1963
- М.Д. Хэтч и К.Р. Слэк 1966 сах. тростник

• Продукт фиксации

• C₄ – малат (ЩУК),
аспартат

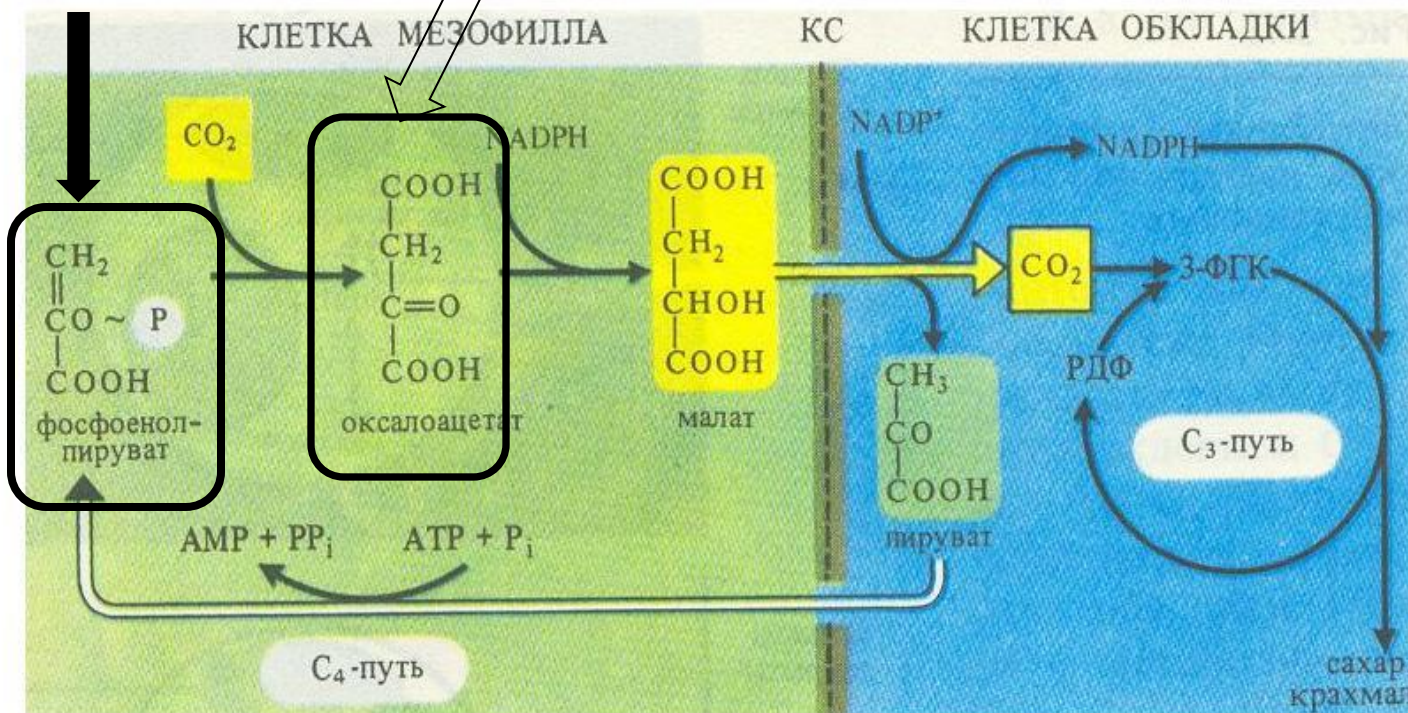
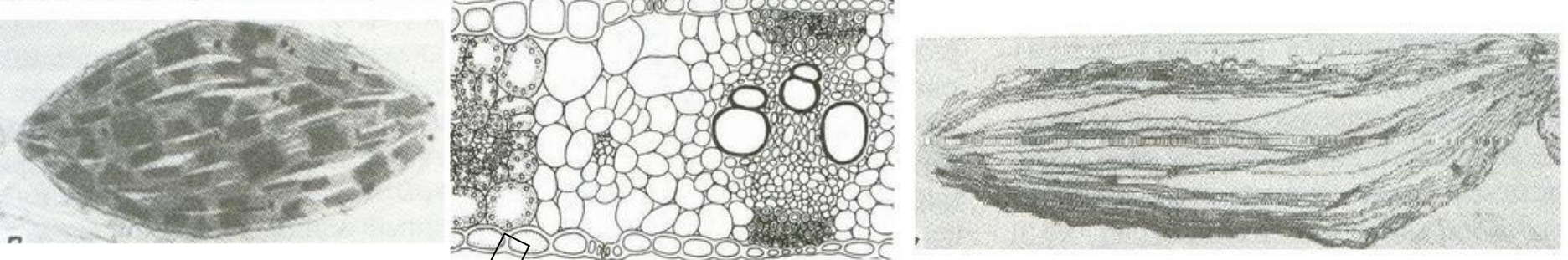
• Акцептор

• C₃ – ФЕП

Анатомические особенности листа —

- у C_4 -растений есть клетки обкладки вокруг сосудисто-волокнистых пучков, содержащие большие хлоропласты без гран, а клетки мезофилла расположены рыхло, их хлоропласты более мелкие, с гранами.

Анатомическое строение листа и схема C₄-пути фотосинтеза



•Дополнительные реакции

•Основные реакции

Отличие C_4 -пути от C_3 -пути:

- Хэтч и Слэк в 1966г, а еще ранее Карпилов (1960г.), Корчак (1965г.) – установили, что у сахарного тростника и кукурузы в противоположность циклу Кальвина акцептором CO_2 является ФЭП, а не РБФ.
- ФЭП-карбоксилаза имеет более высокое химическое сродство к CO_2 , чем РБФ-карбоксилаза. При концентрации в 100 раз ниже обычной ФЭП-карбоксилаза более активна.

Преимущество C_4 -растений:

- в клетках обкладки CO_2 концентрируется, потому что фотодыхание не идет;
- клетки обкладки находятся вокруг сосудисто-волокнистых пучков, что содействует быстрому оттоку органических веществ, они не накапливаются в хлоропластах;
- сопротивление устьиц выше у этих растений, CO_2 входит с трудом, что мешает транспирации. Растения более экономно расходуют воду, более устойчивы к засухе.

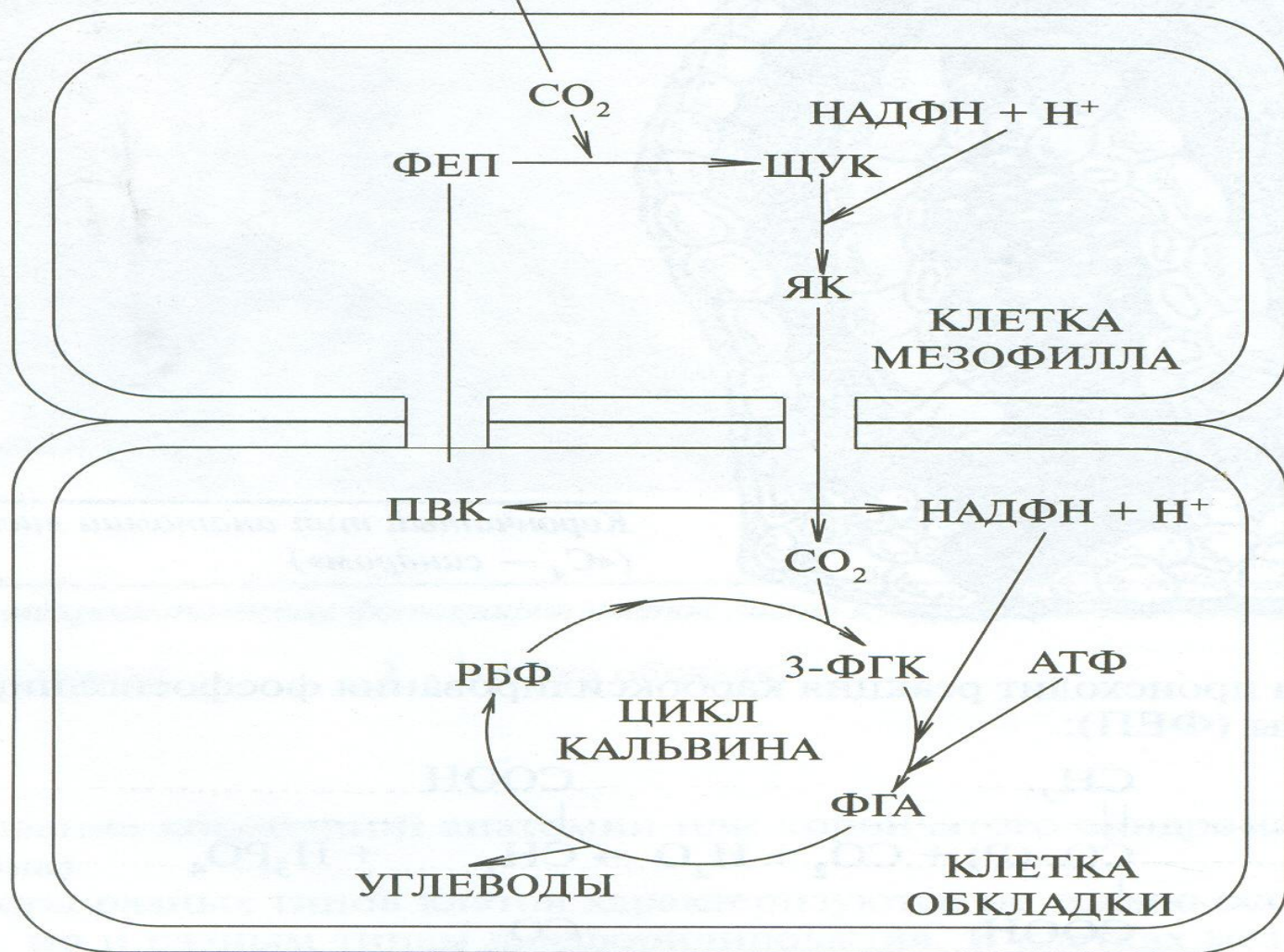


рис. 58

Фотосинтетический цикл Хэтча-Слэка (C₄ — путь):

ФЕП — фосфоенолпировиноградная кислота;

ЩУК — щавелевоуксусная кислота;

ЯК — яблочная кислота;

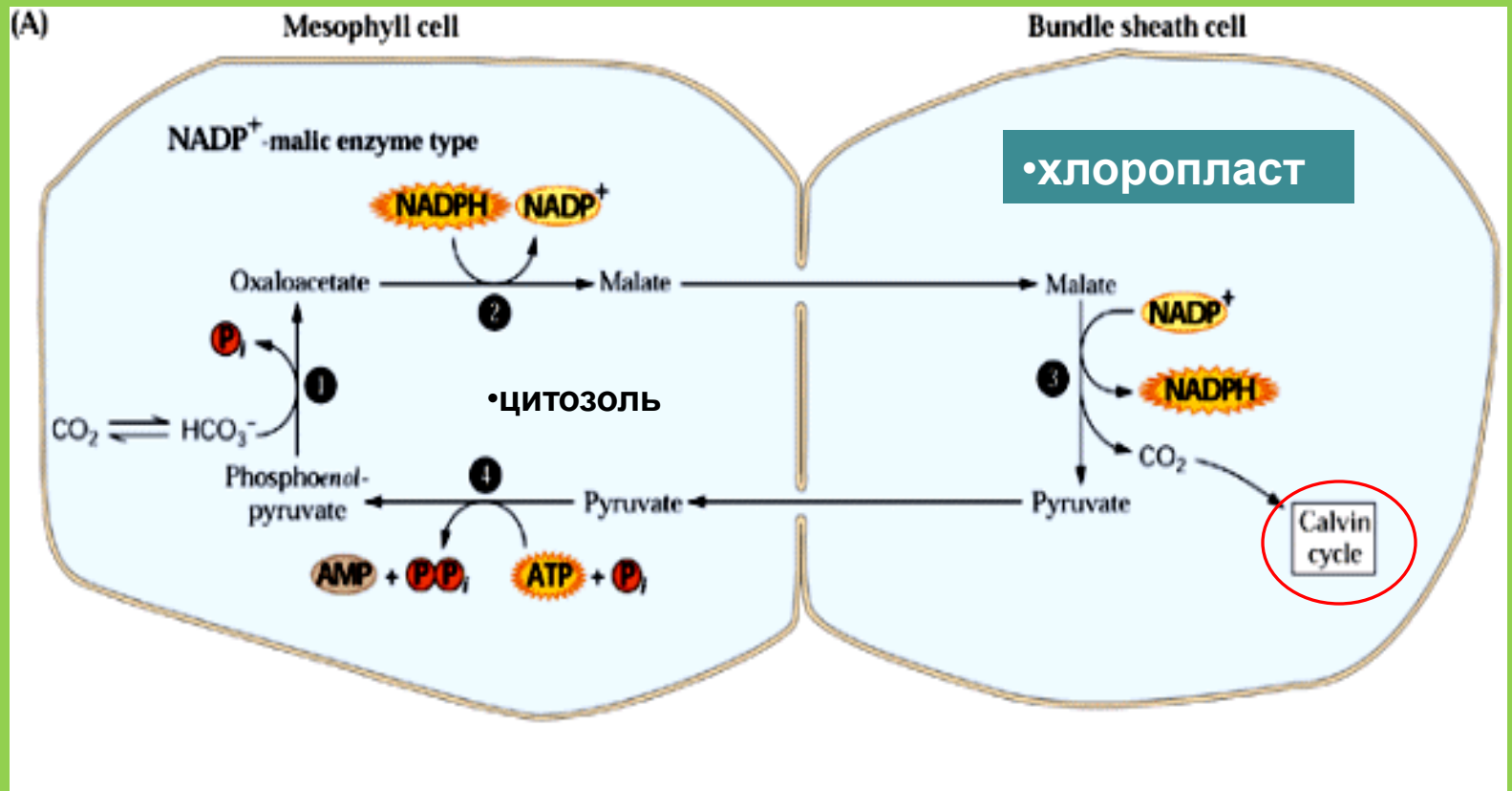
ПВК — пировиноградная кислота;

РБФ — рибулозо-1,5-бифосфат;

3-ФГК — фосфоглицериновая кислота;

ФГА — фосфоглицериновый альдегид

Кооперативный тип ФС (I группа)

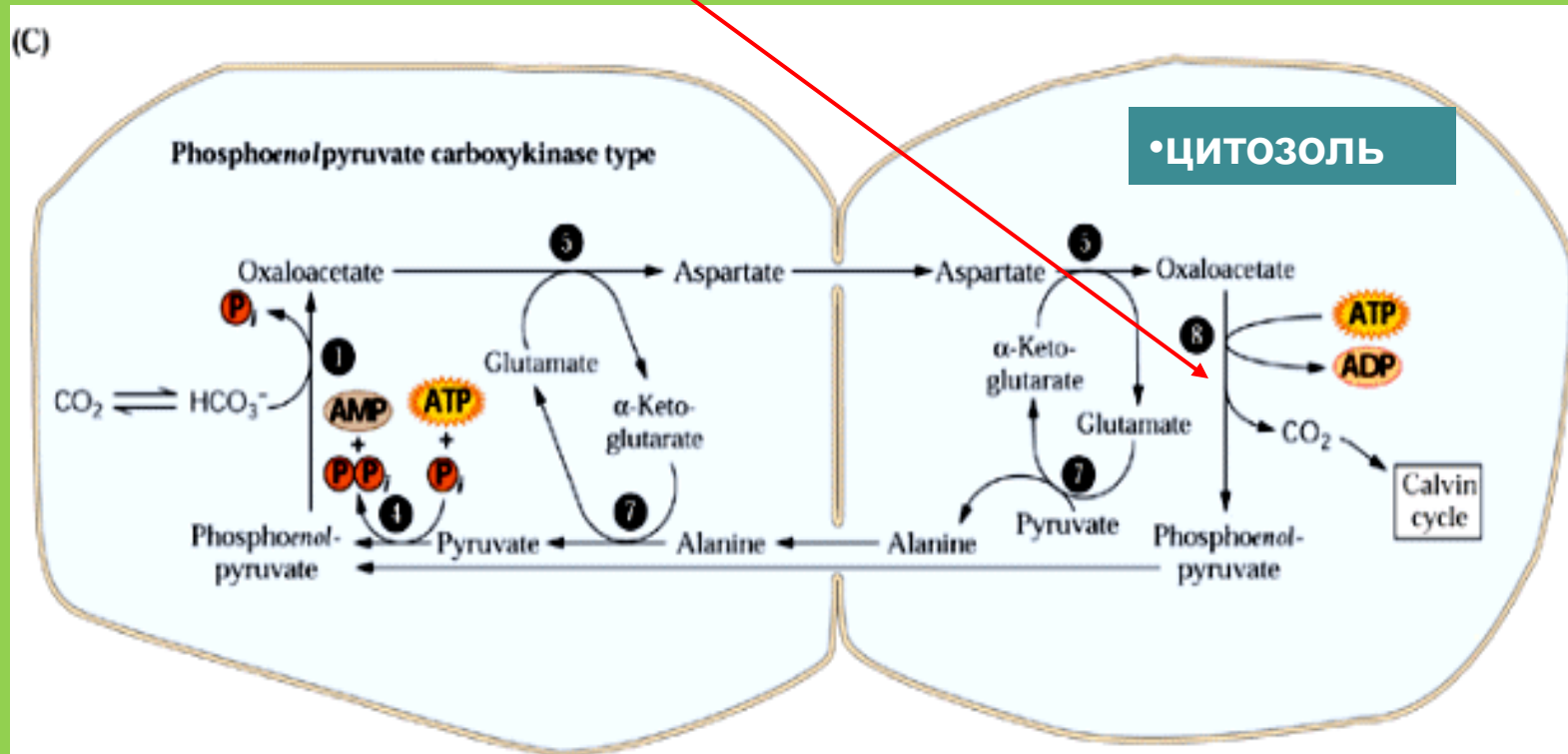


- Кукуруза
- Сорго
- Сахарный тростник

1. **ФЕПК**: фосфоенолпируват карбоксилаза
2. НАДФ-малатдегидрогеназа
3. **НАДФ-малик энзим** (МДГ декарбоксилирующая)
4. Пируват-ортофосфат дикиназа

Кооперативный тип ФС (III группа)

•ФЕПКК: фосфоенолпируват карбоксикиназный тип



•Просо

•хлорис

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. PEP carboxylase | 5. Aspartate aminotransferase |
| 2. NADP ⁺ -malate dehydrogenase | 6. NAD ⁺ -malic enzyme |
| 3. NADP ⁺ -malic enzyme | 7. Alanine aminotransferase |
| 4. Pyruvate-orthophosphate dikinase (PPDK) | 8. PEP carboxykinase |

C₄ растения различаются по способам декарбоксилирования

- Карбоксилирование у всех одинаково: в цитозоле клеток мезофилла
 - **ФЕПК: фосфоенолпируват карбоксилаза**
- **Декарбоксилирование трех ТИПОВ**
 - 1. НАДФ-малатдегидрогеназа
 - 2. НАДФ-малик энзим (МДГ декарбоксилирующая)
 - 3. ФЕПКК: фосфоенолпируват карбоксикиназа

Кооперативный тип фотосинтеза

! Морфологические особенности
! Биохимические особенности

• Продукт фиксации CO_2

• малат

• аспартат

• Фермент
декарбоксилирования

• НАДФ-МЭ

• НАД-МЭ

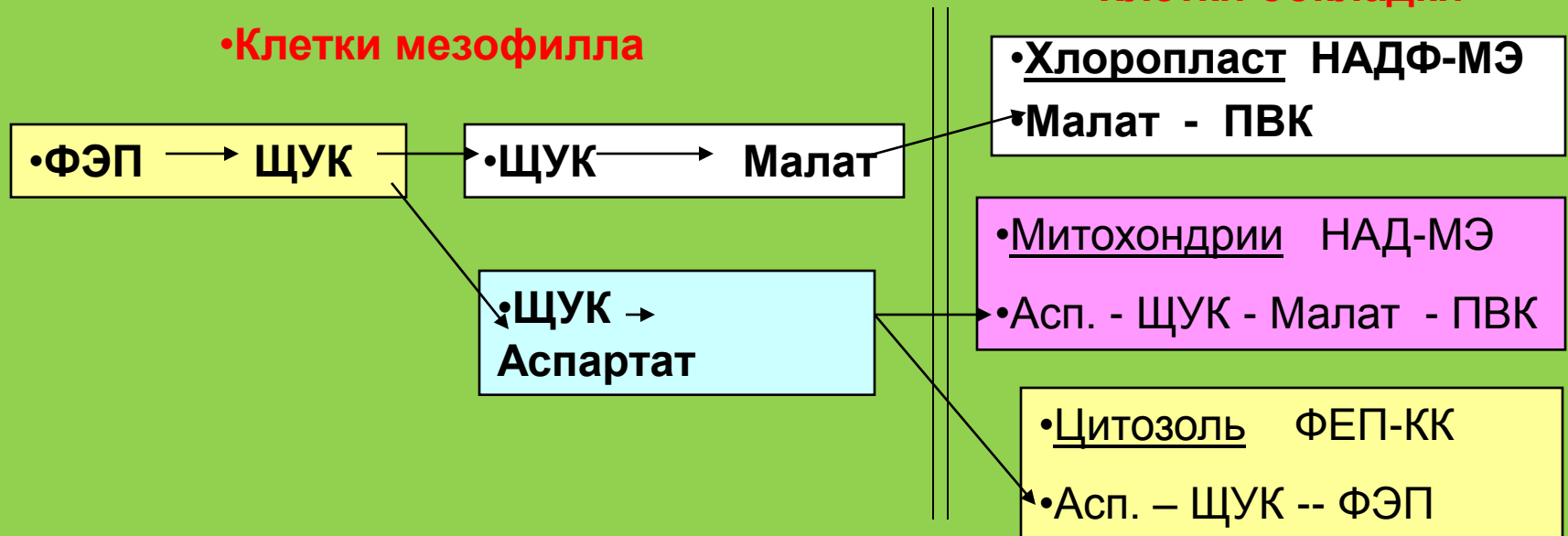
• ФЕП-КК

C₄ - растения

1. C₄ + C₃ биохимические циклы
2. Кранц анатомия, диморфизм хлоропластов
3. Подавлено фотодыхание
4. Высокая продуктивность
5. Приспособлены к обитанию в жарких, засушливых местах и в условиях засоления

•Клетки обкладки

•Клетки мезофилла



•C₄ – растения: 18 семейств

•90% видов в двух семействах

•***Poaceae*** (1000) и ***Chenopodiaceae*** (250)

•Злаки:

•3 типа кранц анатомии, 3
энзиматические группы

•Маревые:

•4 типа кранц анатомии, 3
энзиматические группы

•Пьянков Владимир Иванович, Мокронос Адольф
Трофимович (1993)

•«Основные тенденции изменения растительности земли в
связи с глобальным потеплением климата»// «Физиология
растений», том 40, N 4, с. 515 - 531



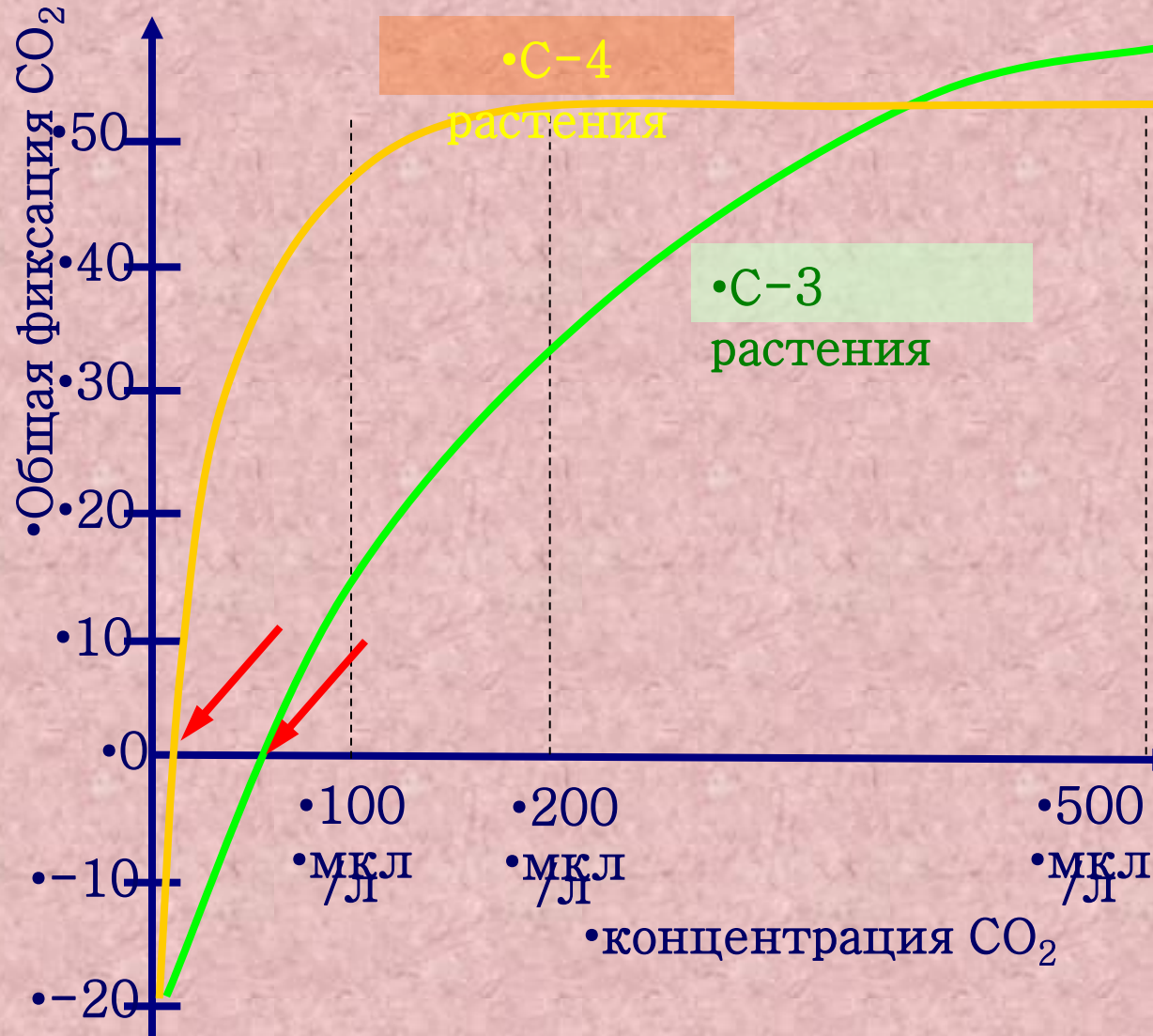
•С-4

•ФОТОСИНТЕЗ

• Углекислотный

• компенсационный пункт

• мкмоль CO_2 на м^2 в сек.

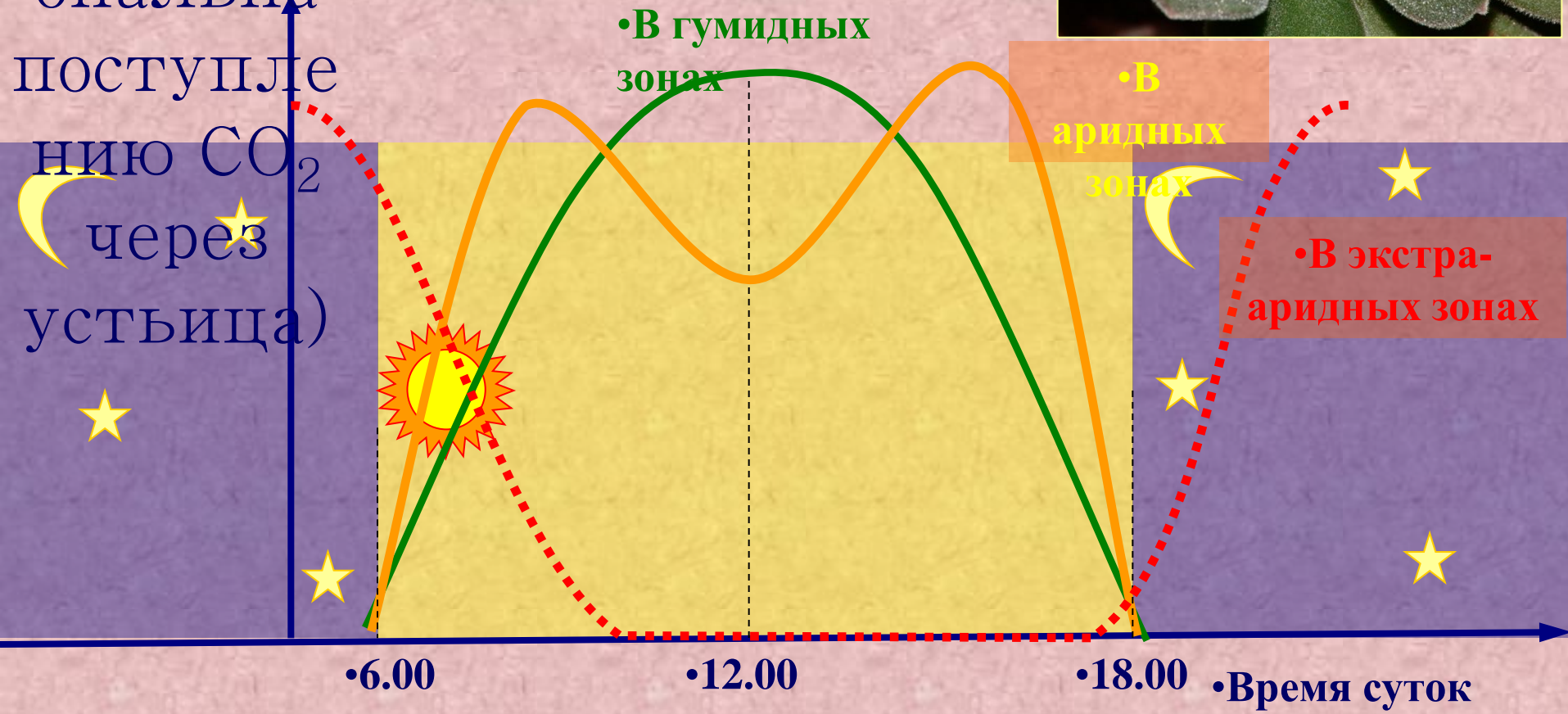


• Дневной ход фотосинтеза

• Фиксация
углекислоты

(пропорци
ональна
поступле
нию CO_2
через
устьица)

- Иногда нет возможности
- открыть устьица
- даже ночью!



Ассимиляция CO_2 у толстянковых – САМ – фотосинтез

- У обычных C_4 -растений 1 и 2 карбоксилирование разделены пространством – мезофилл и обкладка; у толстянковых – временем: все реакции идут в мезофилле, ночью образуются органические кислоты при открытых устьицах, днем при закрытых - CO_2 выделяется внутри клеток и происходит цикл Кальвина.
- Фотосинтез идет на свету при закрытых устьицах (приспособление к засухе).

• CAM-метаболизм

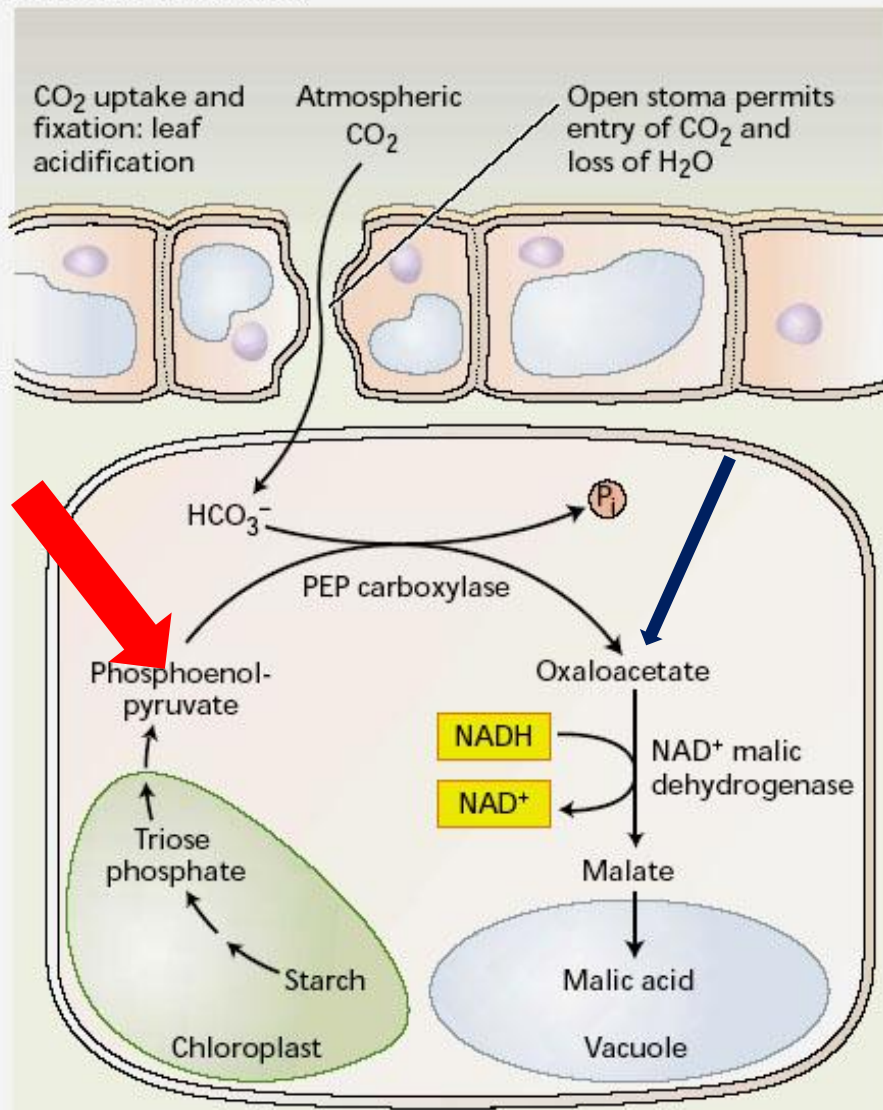


- CAM
- (Crassulaceae Acid Metabolism)

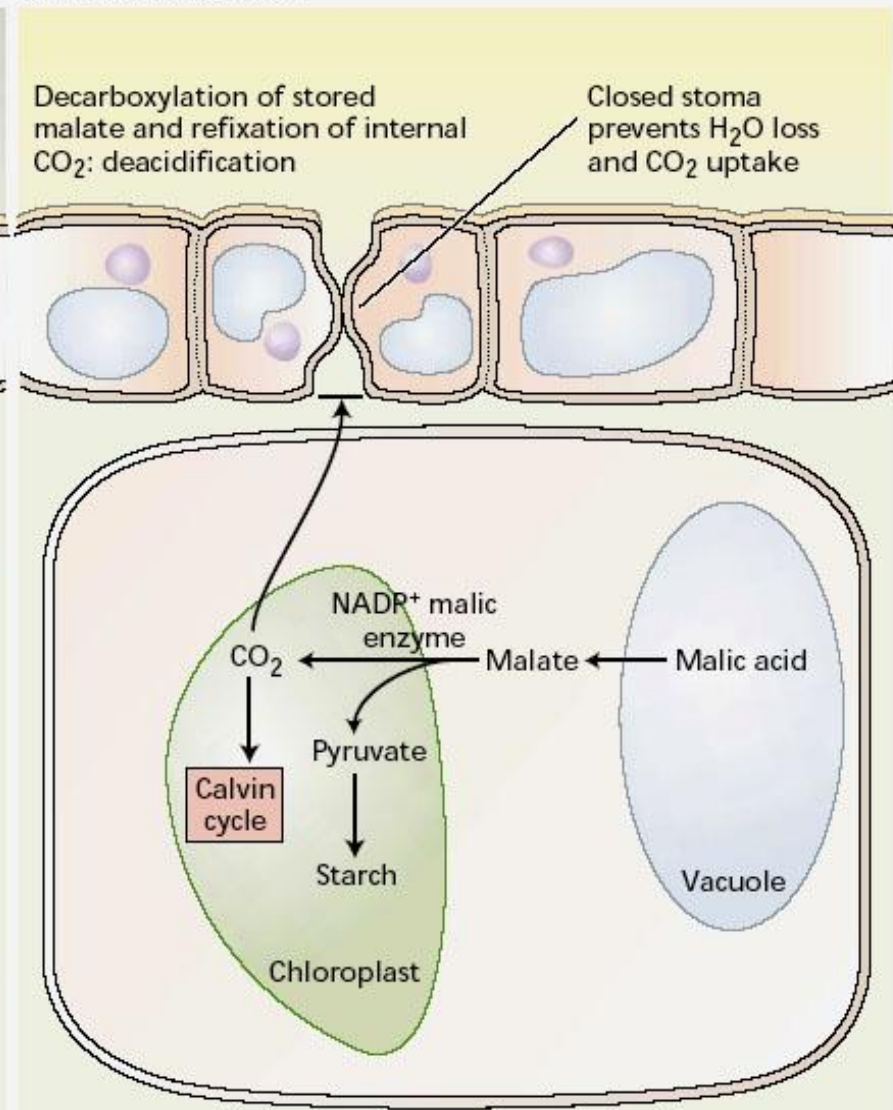
- Временное разделение
 - фиксации CO_2
 - ФЕП-карбоксилазой
 - и цикла Кальвина

CAM-метаболизм: временное разделение карбоксилирования и фиксации CO₂

Dark: Stomata opened



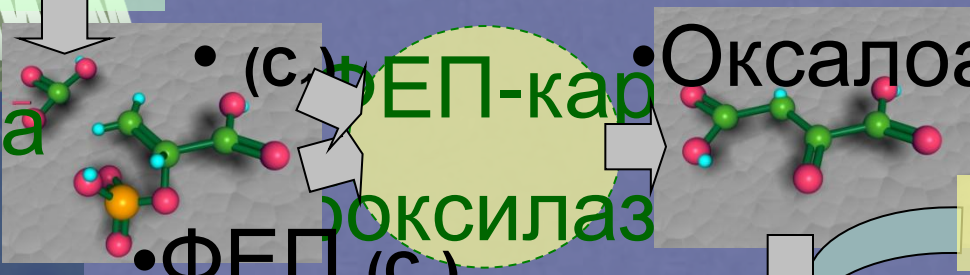
Light: Stomata closed



CAM-1



• ангидраза

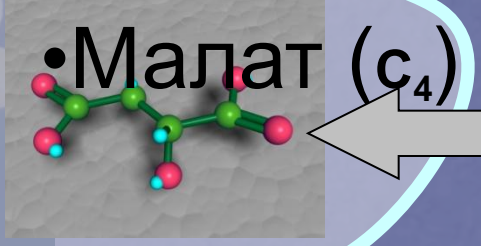


• NA

DH

• NA

DP+



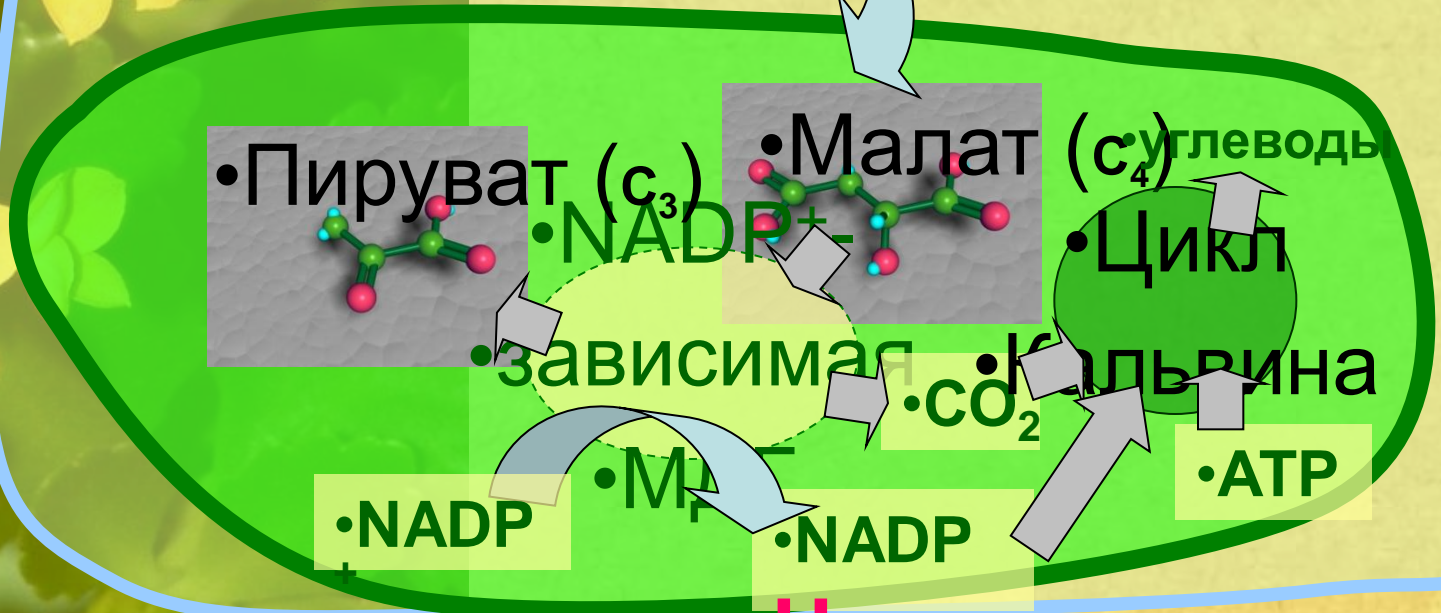
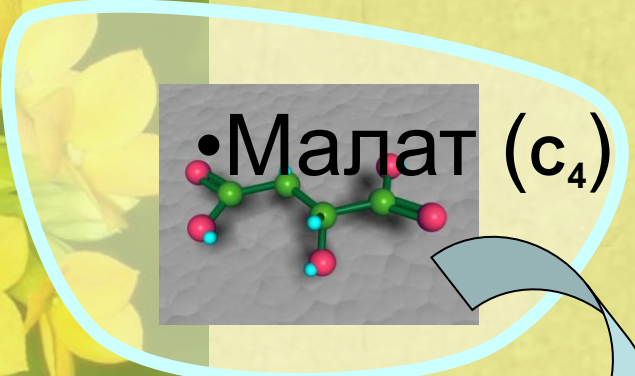
• НОЧЬ



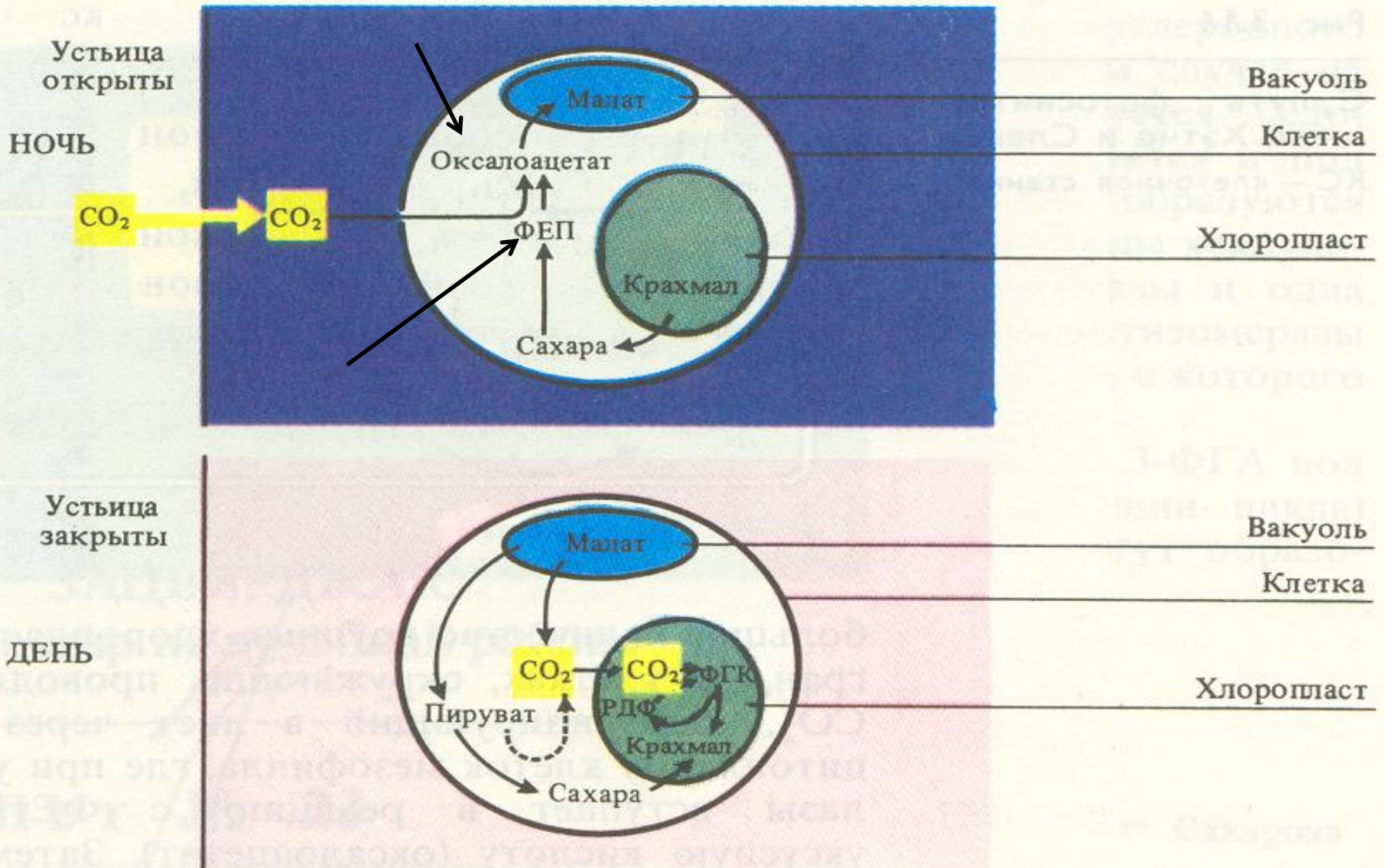
•САМ-метаболизм

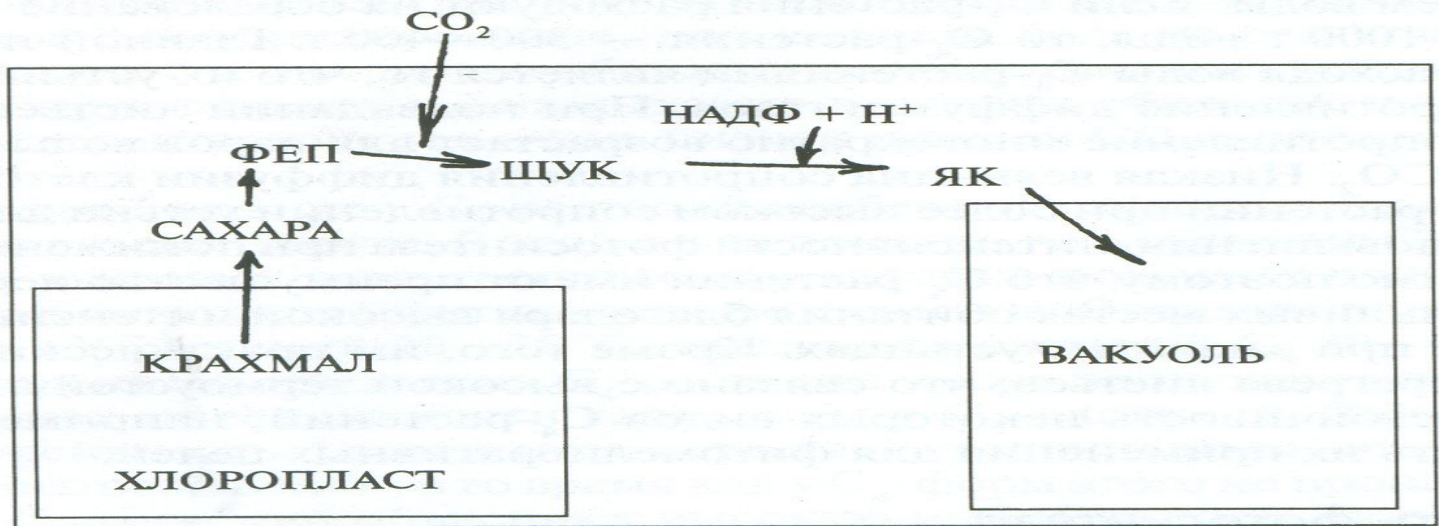
•NADP⁺-зависимый МДГ путь

•День



САМ-фотосинтез





День. Устьица закрыты

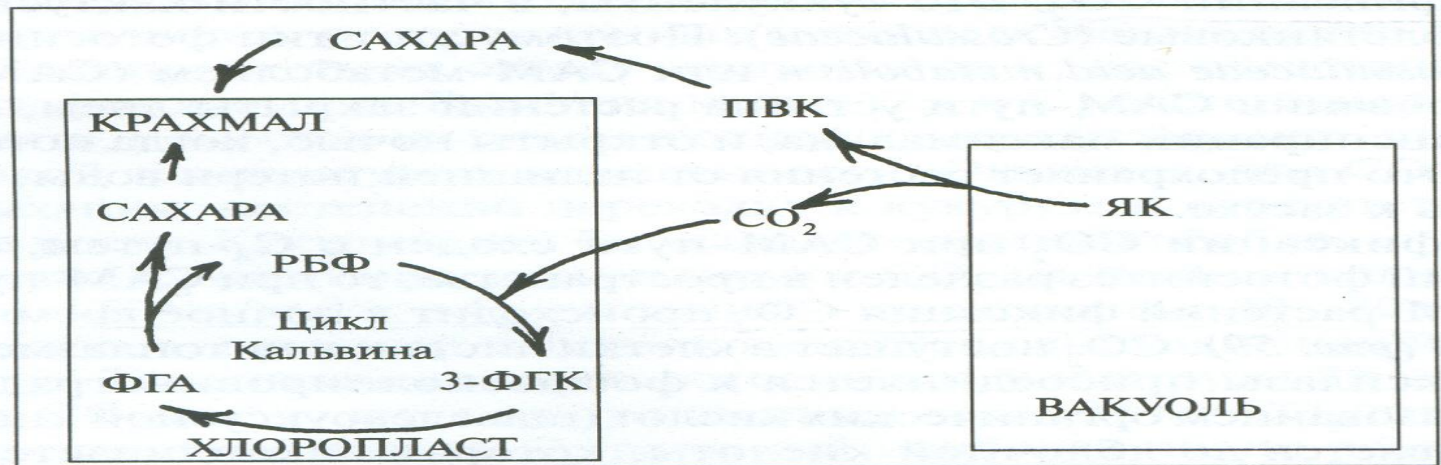
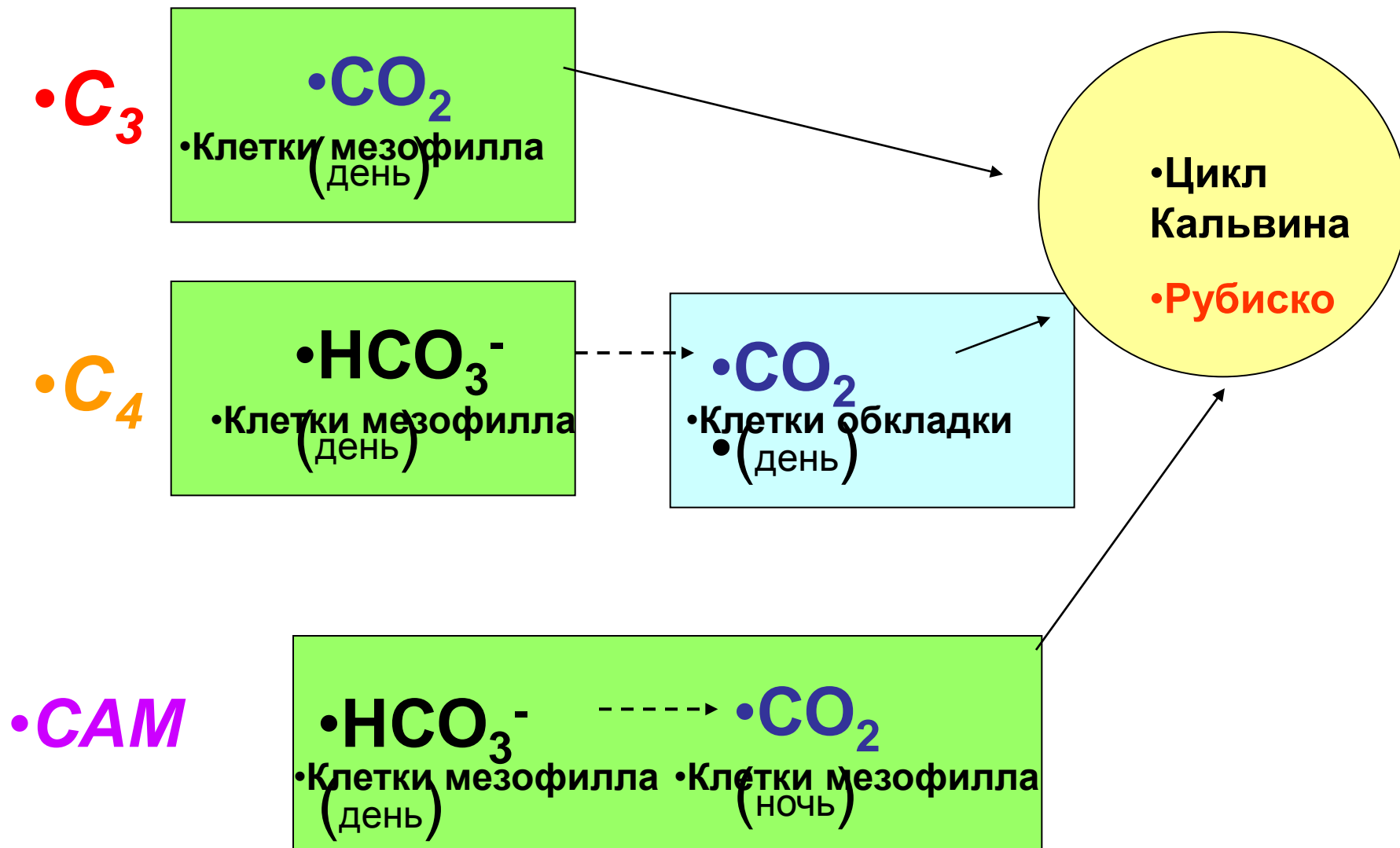


рис. 59

САМ — метаболизм

- ФЕП** — фосфоенолпировиноградная кислота;
- ЩУК** — щавелевоуксусная кислота;
- ЯК** — яблочная кислота;
- ПИК** — пировиноградная кислота;
- РБФ** — рибулозо-1,5-бифосфат;
- 3-ФГК** — фосфоглицериновая кислота;
- ФГА** — фосфоглицериновый альдегид

•Схема ассимиляции CO_2 у растений с разным типом ФС

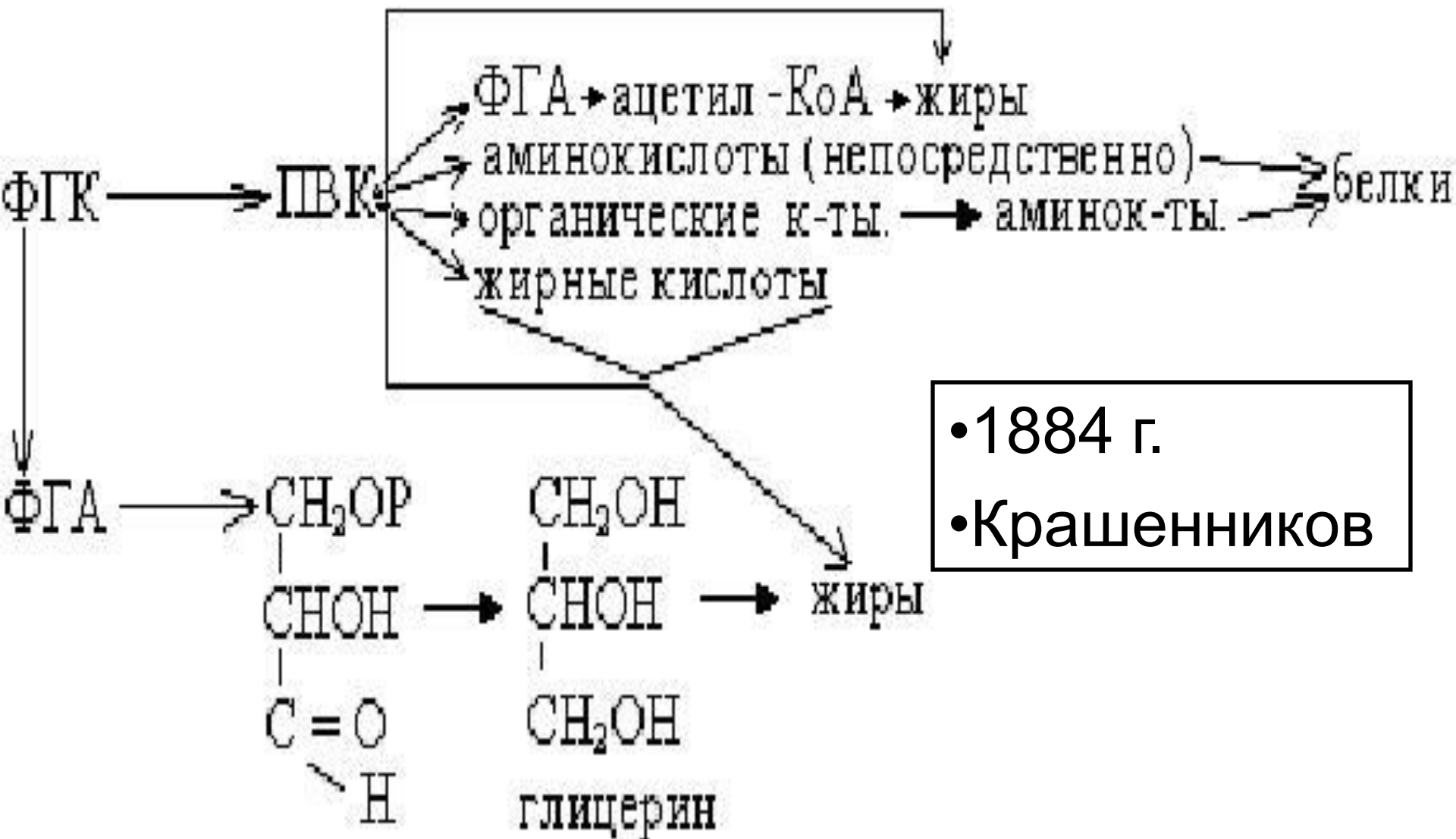


C_3 , C_4 и САМ–метаболизм: адаптационные приспособления и переключения.



- «Хрустальная травка».
- При засолении и засухе может переключать свой метаболизм с C_3 на САМ

Продукты фотосинтеза



- 1884 г.
- Крашениников

Из промежуточных продуктов цикла Кальвина могут образовываться жиры, липиды и др. продукты. Состав продуктов, образующихся при фотосинтезе, может быть определен исходя из величин **фотосинтетического коэффициента**

- Под фотосинтетическим коэффициентом понимается отношение выделенного в процессе фотосинтеза кислорода к поглощенному CO_2 .

- $$\text{ФК} = V_{\text{O}_2} / V_{\text{CO}_2}$$

Работы Ничипоровича, Андреевой и Воскресенской показали:

- Синий свет



Больше белков

Красный свет



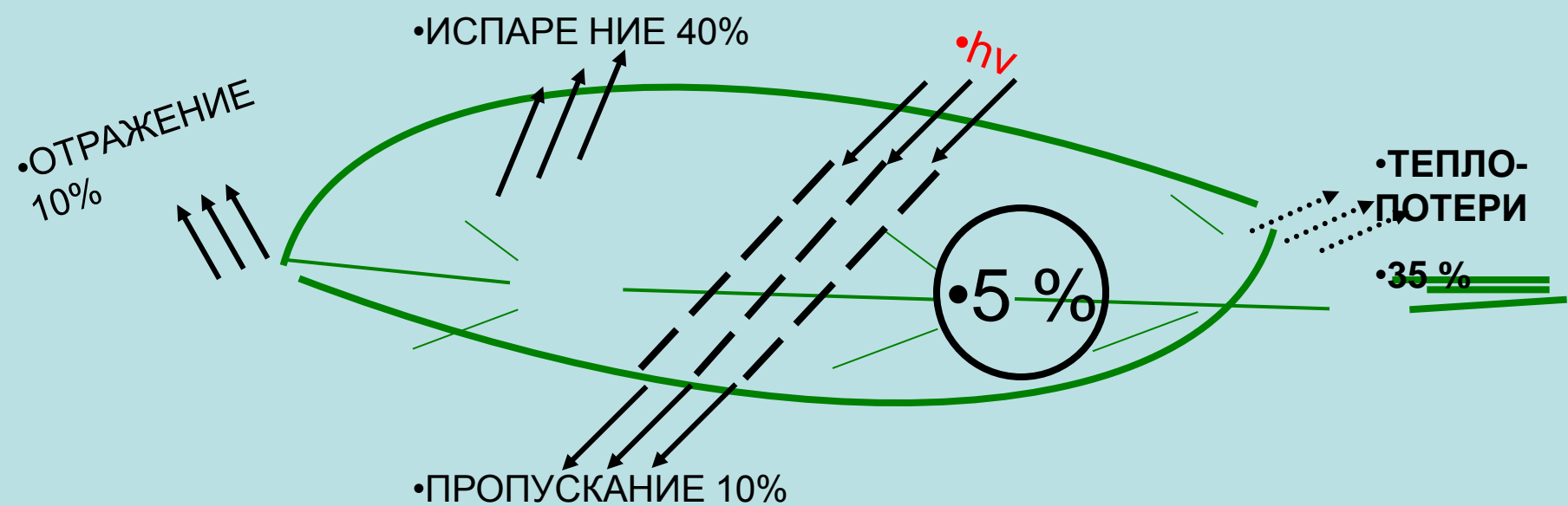
больше углеводов

Нет единства в продуктах фотосинтеза, это является приспособительной реакцией.

Есть группы растений, у которых основные продукты фотосинтеза:

- **сахароза и крахмал (90-95%)** — картофель, сахарная свекла, ранневесенние эфемеры (тюльпаны) и др.
- **галактозосодержащие углеводы** — раффиноза, стахиоза, вербаскоза- тыквенные.
- **сахароспирты** — манит, сорбит — яблоня, ясень, сирень, сельдерей и др.
- наряду с сахарозой и крахмалом есть **глицин, серин** и другие аминокислоты — бобовые.

Таким образом, сущность темновой стадии фотосинтеза — преобразование химически связанной энергии лабильных промежуточных соединений АТФ и НАДФН в потенциальную энергию химических связей стабильных продуктов – сахаров, аминокислот и др.



• У биол. = $\Phi_{\text{и}} - (\text{Дт} + \text{Дф})$

• У хоз. = $\Phi_{\text{и}} - (\text{Дт} + \text{Дф} + \text{Мв})$

• У хоз. = $\Phi_{\text{ч.п.}}$

• $K_{\text{хоз}} = U_{\text{хоз}} / U_{\text{биол.}}$

• **ФИ – ФОТОСИНТЕЗ ИСТИННЫЙ**

• **ДТ- ДЫХАНИЕ ТЕМНОВОЕ**

• **ДФ – ФОТОДЫХАНИЕ**

• **МВ – ВЕГЕТАТИВНАЯ МАССА**

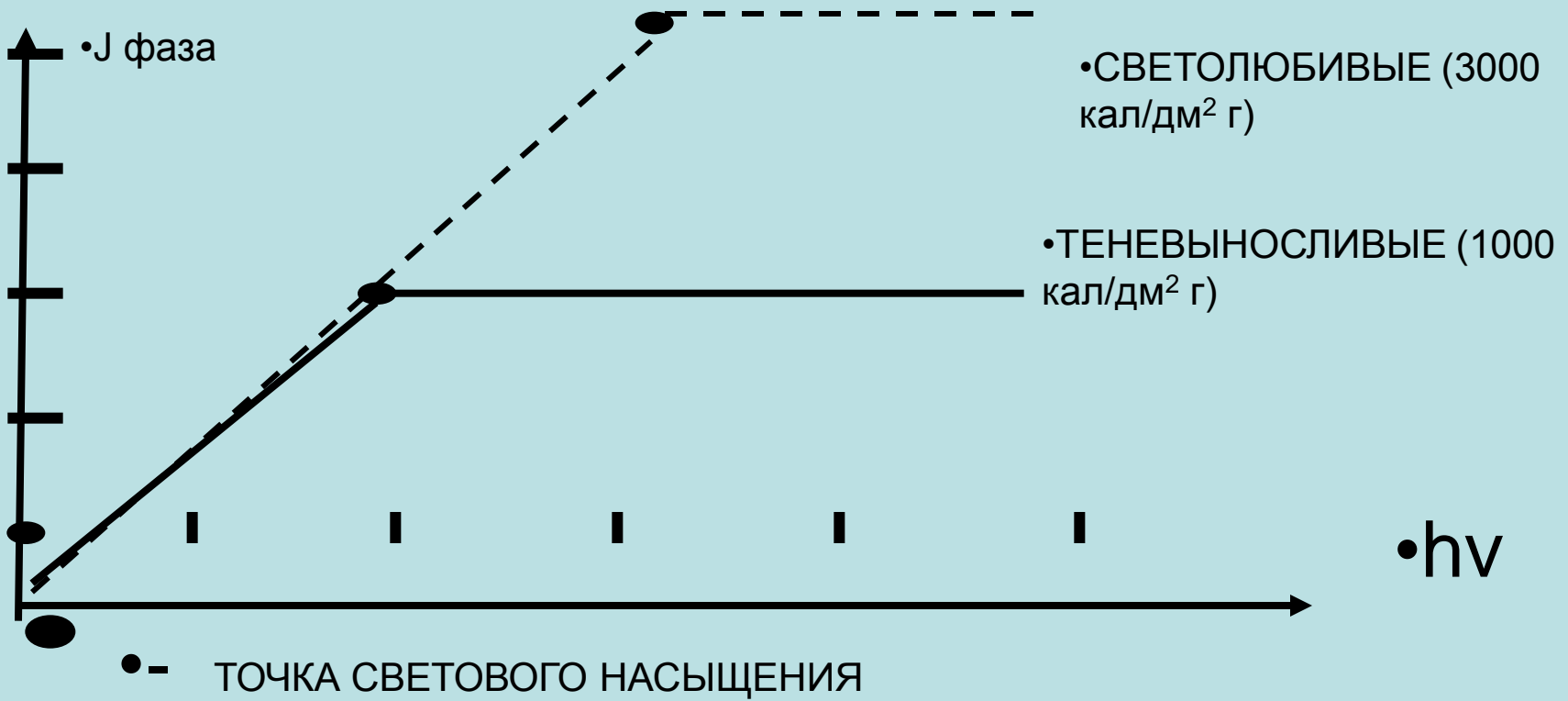
• **ФЧП – ЧИСТАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕЗА**

• **$K_{\text{хоз}}$ – КОЭФФИЦИЕНТ ХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕЗА**

- $\frac{B_2 - B_1}{\text{ЗА СУТКИ}}$
- Фг.п. = $\frac{B_2 - B_1}{\text{ЗА СУТКИ}}$ г/м²

- $\frac{1}{2} (A_1 + A_2) T$
- Ф – ОБЩАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ФОТ-ЗА
- $B_2 - B_1$ - УВЕЛИЧЕНИЕ М СУХОГО ВЕЩЕСТВА, г
- Т – ПЕРИОД НАБЛЮДЕНИЯ (СУТКИ)
- $\frac{1}{2} (A_1 + A_2)$ - СРЕДНЯЯ ПЛОЩАДЬ ЛИСТЬЕВ, м²

- ФОРМУЛА
- КИДДА-ВЕСТА-БРИГГСА



Теория фотосинтетической продуктивности

- Основные положения теории фотосинтетической продуктивности были сформулированы в 1950-х гг. А.А. Ничипоровичем. Она включает анализ количественных взаимосвязей между величиной солнечной радиации, приходящей на единицу поверхности фитоценоза, с общим уровнем продуктивности сельскохозяйственных растений.
- Для более продуктивного фотосинтеза должны быть решены следующие задачи:
 1. Эффективное использование растениями солнечной радиации, путем правильного размещения растений в посевах, т.е. посевы не должны быть загущены (общая S листьев примерно в 3-4 раза превышает занимаемую растениями площадь земли).
 2. Обеспечение растений достаточным количеством CO_2 (орг. удобрения).
 3. Удовлетворение потребностей растения в воде и минеральной пище.
 4. Селекционный отбор растений.