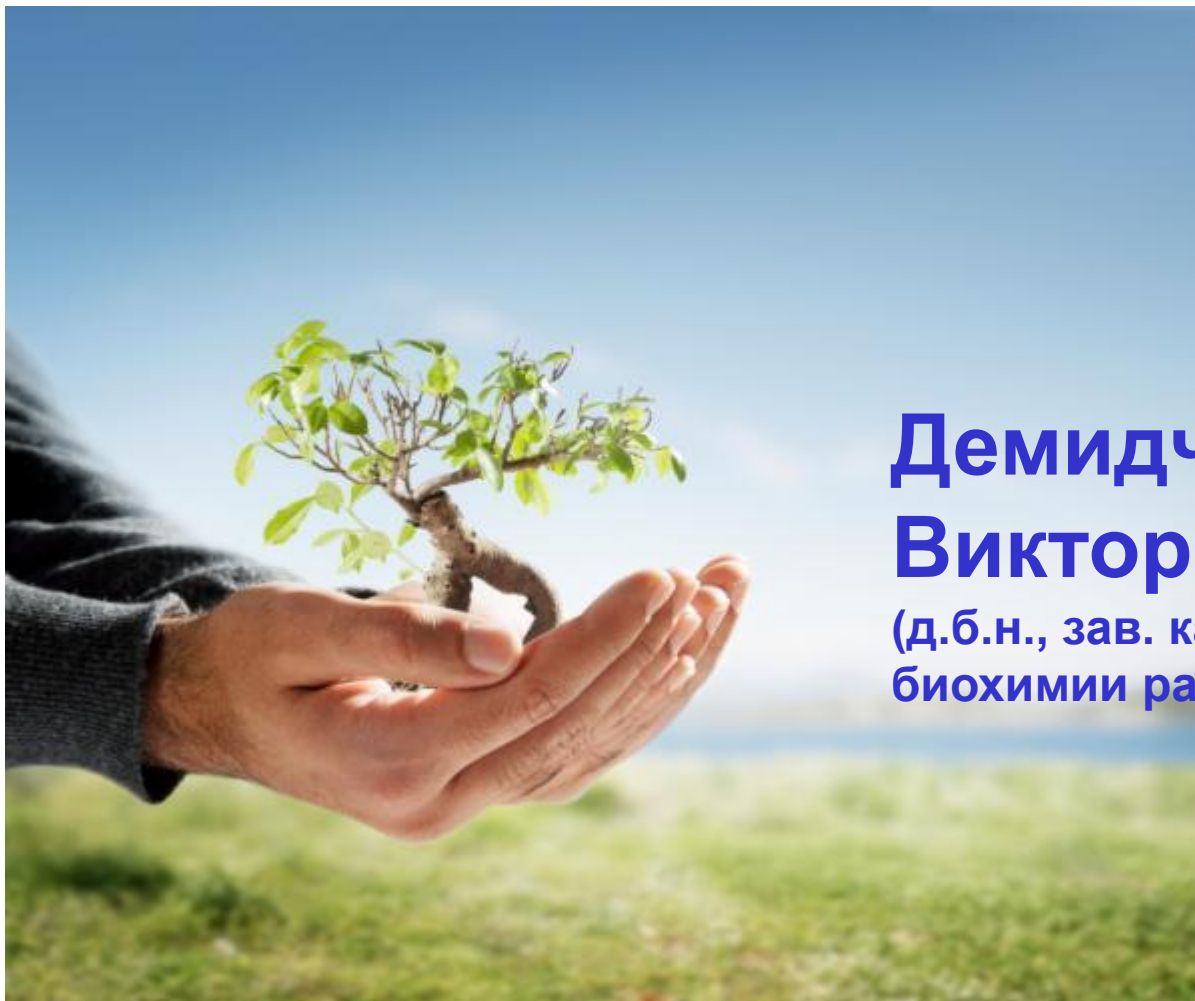
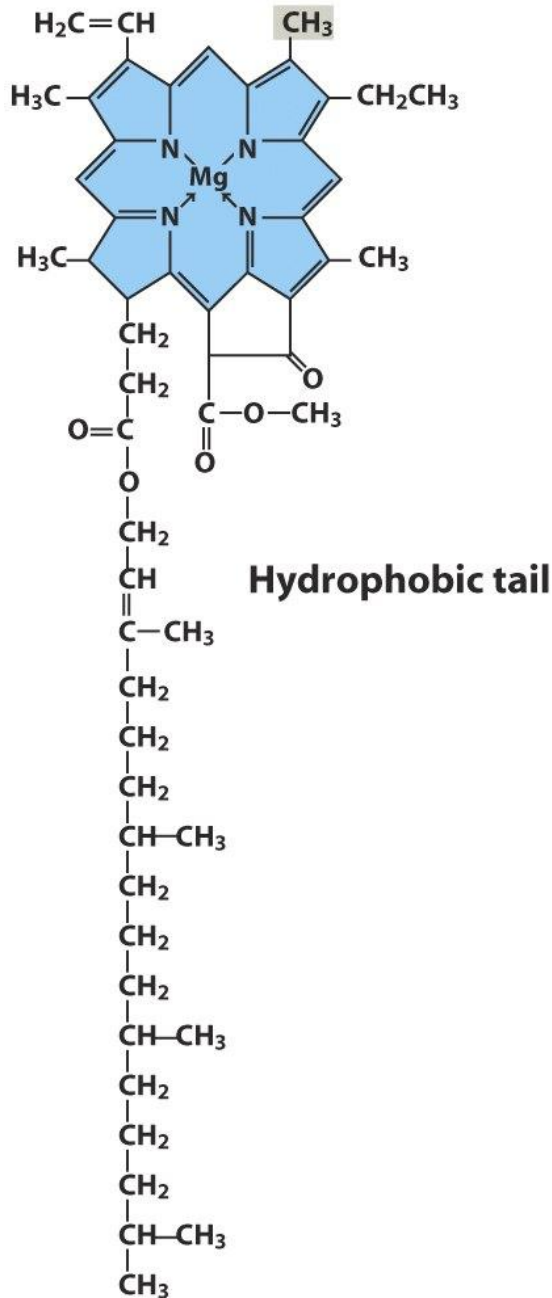


Физиология растений



**Демидчик Вадим
Викторович**

(д.б.н., зав. каф. физиологии и
биохимии растений)



Пигменты – это вещества, которые окрашены, благодаря избирательному поглощению света.

При освещении обычным солнечным светом их цвет определяется лучами, которые они **отражают или пропускают**.

Способность пигментов поглощать свет связана с наличием в их молекулах систем подвижных электронов, поглощающих фотоны (кванты света).

Сопряженные (конъюгированные) связи ответственны за захват фотонов. Изменение длины волны происходит только, если фотоны изменяют (теряют) свою энергию.

Поглотив **фотон** электрон **«энергизируется»** и может оторваться от молекулы пигмента и присоединиться к другим веществам, что приводит к их химическому восстановлению и запасанию энергии.

Кванты некоторых полей имеют специальные названия:

фотон — квант электромагнитного поля

глюон — квант векторного (глюонного) поля в квантовой хромодинамике, ответственный за так-называемое сильное взаимодействие

гравитон — гипотетический квант гравитационного поля;

фонон — квант колебательного движения атомов кристалла

В 1818 г. французы Ж. Пелтье и Ж. Ковенту выделили из листа зеленое вещество и назвали его хлорофиллом (от греч. chloros – зеленый, phyllon – лист). Во второй половине XIX в. ученые уже знали о тесной связи фотосинтеза с этим зеленым веществом. Начались его исследования.

Ч. Дарвин назвал хлорофилл самым интересным веществом на Земле, а сейчас это вещество занимает первое место в мире среди органических соединений по количеству напечатанных статей.

В 1860 г. француз Э. Фреми разделил зеленый экстракт, полученный из листа, на две части: голубовато-зеленую и желтую. Первую он считал хлорофиллом, вторую назвал ксантофиллом.

В 1864 г. англичанин Д. Стокс сделал вывод, что экстракт состоит из четырех пигментов: двух зеленых и двух желтых. Такие же результаты получил Г. Сорби в 1878 г.

Особое внимание исследованию фотосинтетических пигментов стало уделяться после того, как в 1882 г. И. П. Бородин получил хлорофилл в чистом кристаллическом виде, а М. С. Цвет в 1901 г. предложил хроматографический метод.

Изучением желтых пигментов занимались А. Арно (1885–1887 гг., Франция), Г. Молиш (1894–1896 гг., Австрия). Большой вклад в изучение биосинтеза и функций хлорофилла сделан советской и белорусской школой фотосинтетиков – А. А. Красновским, Т. Н. Годневым, А. А. Шлыком.



Сейчас известно, что высшие растения содержат две формы зеленых пигментов:

хлорофиллы а и в

и две формы желтых пигментов (каротиноиды): каротины и ксантофиллы, а также фикобилины.

Главную роль в фотосинтезе играет хлорофилл а.

Строение молекулы его было установлено во втором десятилетии прошлого века, а четверть века спустя искусственно синтезирована молекула хлорофилла (копия природной).

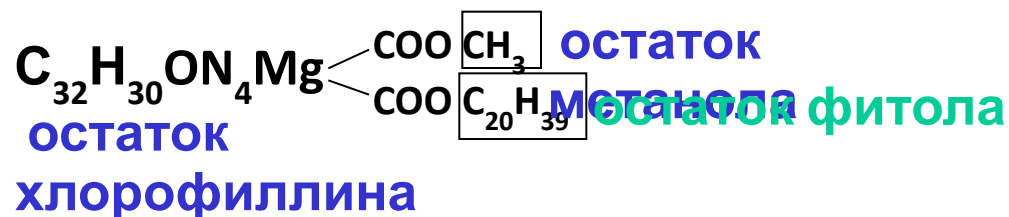
Хлорофилл – сложное органическое вещество. Одной из главных трудностей для выявления точного химического состава хлорофилла является его полная нерастворимость в воде и легкая изменчивость под воздействием солей, кислот и щелочей.

Суммарный химический состав молекулы хлорофилла можно выразить следующей формулой:



Указанные хлорофиллы отличаются одним атомом кислорода и двумя водорода, а по цвету хлорофилл *a* – сине-зеленый; *b* – желто-зеленый.

По химической природе хлорофилл а представляет собой сложный эфир дикарбоновой кислоты **хлорофиллина**, в одном карбоксиле которой водород замещен остатком метанола, а в другом – фитола:



В основе молекулы лежит **порфирин**, который состоит из четырех пирольных колец (пронумерованы римскими цифрами), соединенных метиновыми мостиками (–СН=).

В центре порфиринового ядра находится атом Mg, связанный с N. Таким образом, хлорофилл относится к Mg-порфиринам.

Порфирины входят и в состав гема крови, являются важным компонентом систем, участвующих в дыхании; в этом случае вместо магния они содержат железо.

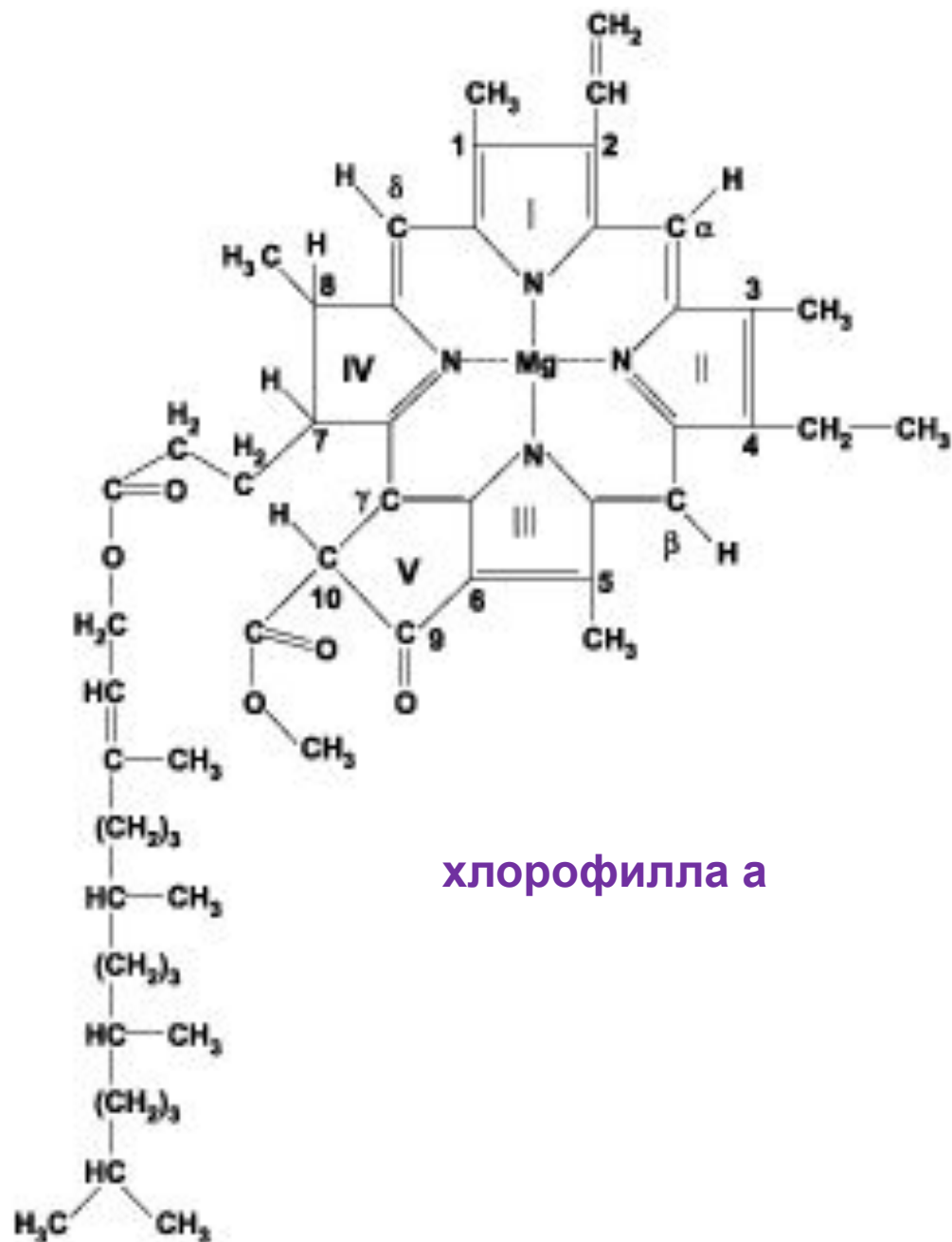
Кроме пирольных в состав молекулы хлорофилла входит цикlopentanовое кольцо (V), которое содержит высокоактивную кетогруппу и участвует в окислении воды.

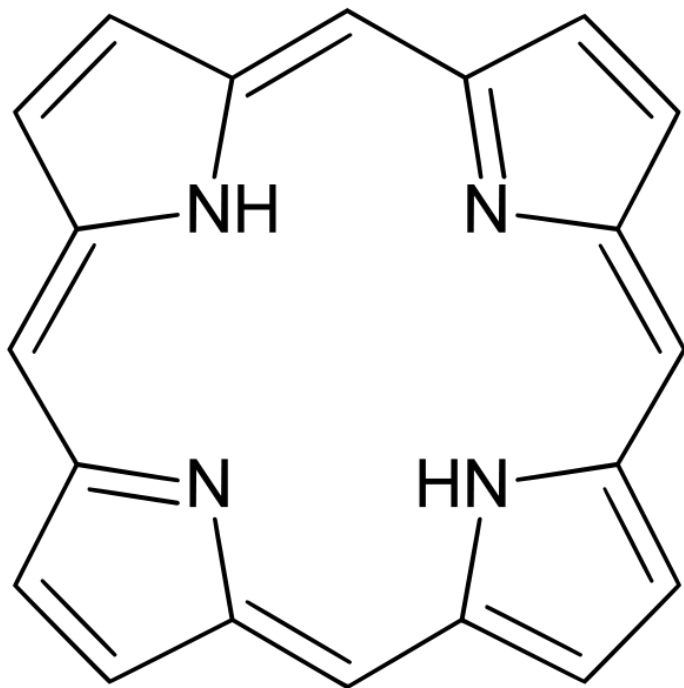
Хлорофилл b отличается от хлорофилла a тем, что ко второму пирольному кольцу присоединена не метильная, а альдегидная группа.

Четыре пирольных кольца и метиновые мостики образуют двойные связи.

Между двумя атомами, связанными двойными атомами, находится четыре электрона.

Когда система состоит из двойных связей, то половина этих π -электронов, как отмечалось, может свободно перемещаться вдоль системы.

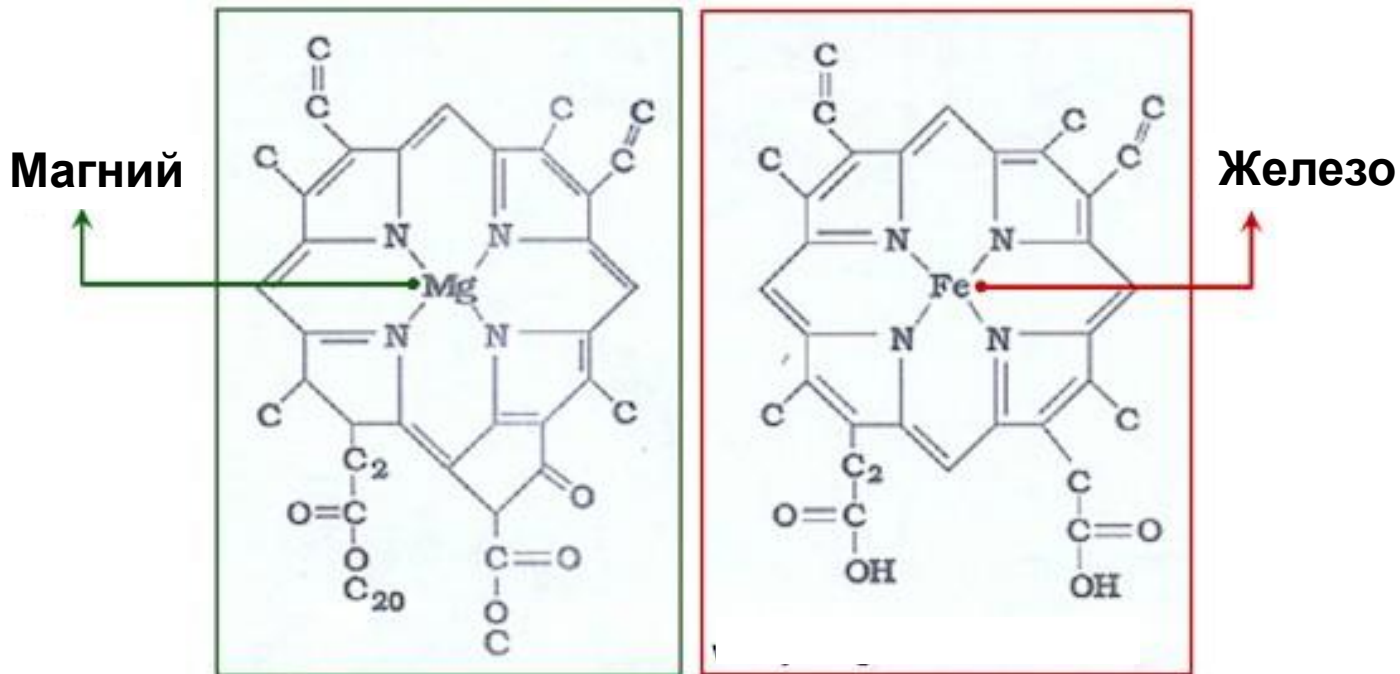




порфин –
самый
простой
порфирин

Порфирины – группа природных органических веществ, состоящих из гетероциклических макроциклов, в состав которых входят 4 модифицированные субъединицы пиррола, соединенных через их α -атом углерода метиновыми мостиками (=CH-).

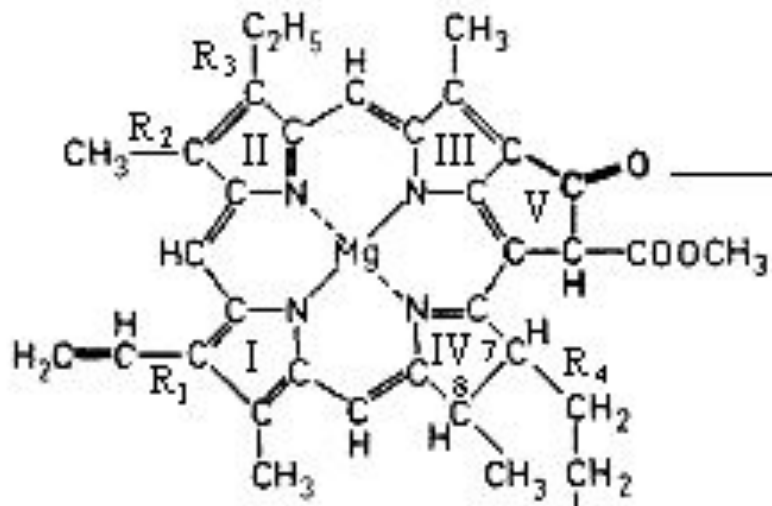
Порфирины – ароматические высококонъюгированные соединения и соответствуют правилу Хюкеля, имея в своем составе электронную конфигурацию $4n+2$ (количество π -электронов). Макроцикл имеет 26 конъюгированных электронов (в результате обобществления p-орбиталей) и поглощает в различных частях спектра. Порфирины легко образуют металлокомплексы.



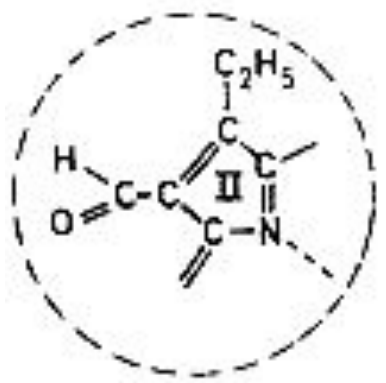
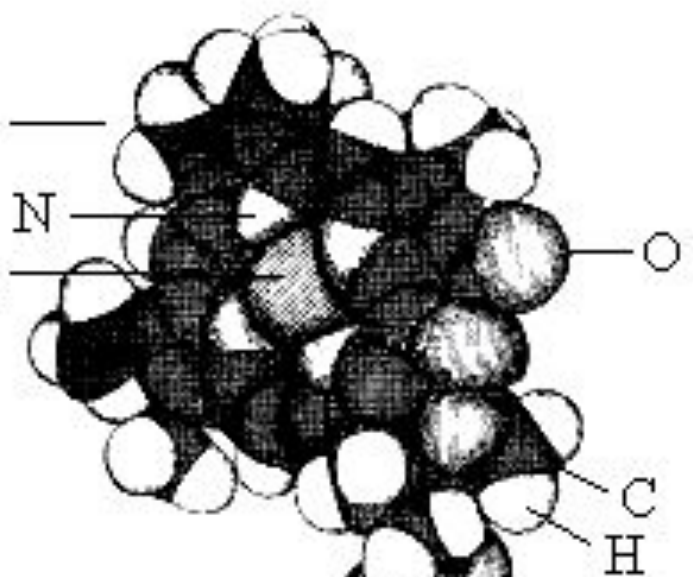
Хлорофилл Гемоглобин

Порфирины – группа природных органических веществ, состоящих из гетероциклических макроциклов, в состав которых входят 4 модифицированных субъединицы пиррола, соединенных через их α -атом углерода метиновыми мостиками ($=\text{CH}-$).

Порфирины – ароматические высококонъюгированные соединения и соответствуют правилу Хюкеля, имея в своем составе электронную конфигурацию $4n+2$ (количество π -электронов). Макроцикл имеет 26 конъюгированных электронов (в результате обобществления p-орбиталей) и поглощает в различных частях спектра. Порфирины легко образуют металлокомплексы.

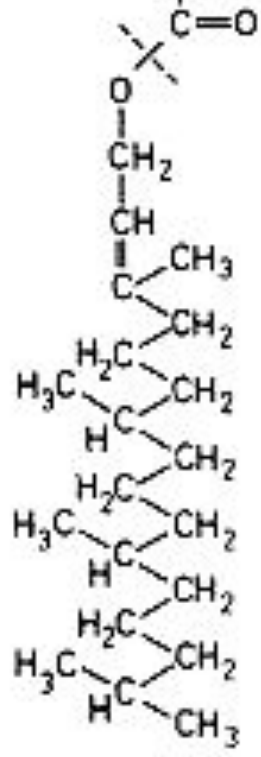


порфирин



хлорофилл *b*

Хлорофилл *b* отличается от хлорофилла *a* тем, что ко второму пирольному кольцу присоединена не метильная, а альдегидная группа.



фитол

хлорофилл *a*

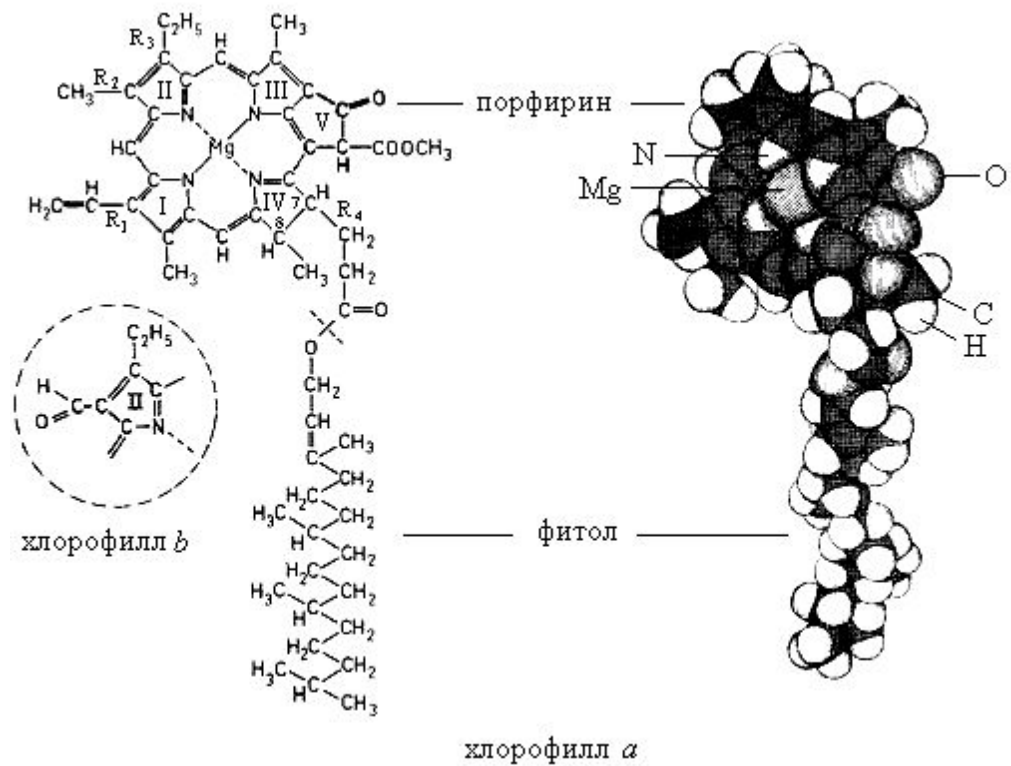
Молекулу хлорофилла делят на две части: порфириновое ядро и фитольный хвост.

Фитольный хвост в два раза длиннее ядра. Порфириновое ядро благодаря наличию атомов кислорода и азота гидрофильно.

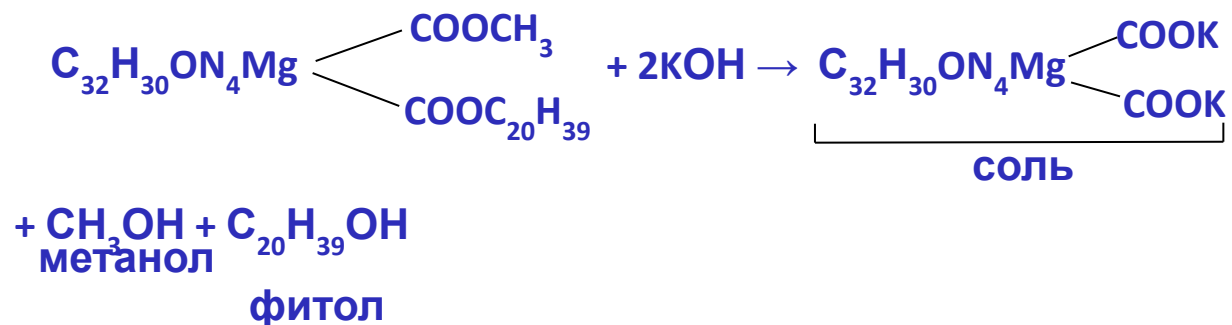
Фитольный хвост – это углеводородная, а это значит – гидрофобная часть молекулы хлорофилла.

Поэтому порфириновое ядро размещается в гидрофильной части мембраны тилакоида, а фитольный хвост в гидрофобной.

Имея разные свойства, две части молекулы хлорофилла выполняют разную функцию: порфириновое ядро, содержащее конъюгированные связи, поглощает свет, а фитольный хвост играет роль якоря, который удерживает молекулу хлорофилла в определенной части мембраны тилакоида.



Доказать, что свет поглощается порфириновым ядром молекулы хлорофилла, можно с помощью реакции хлорофилла со щелочью, в результате которой образуются два спирта (метанол и фитол) и соль хлорофилла:

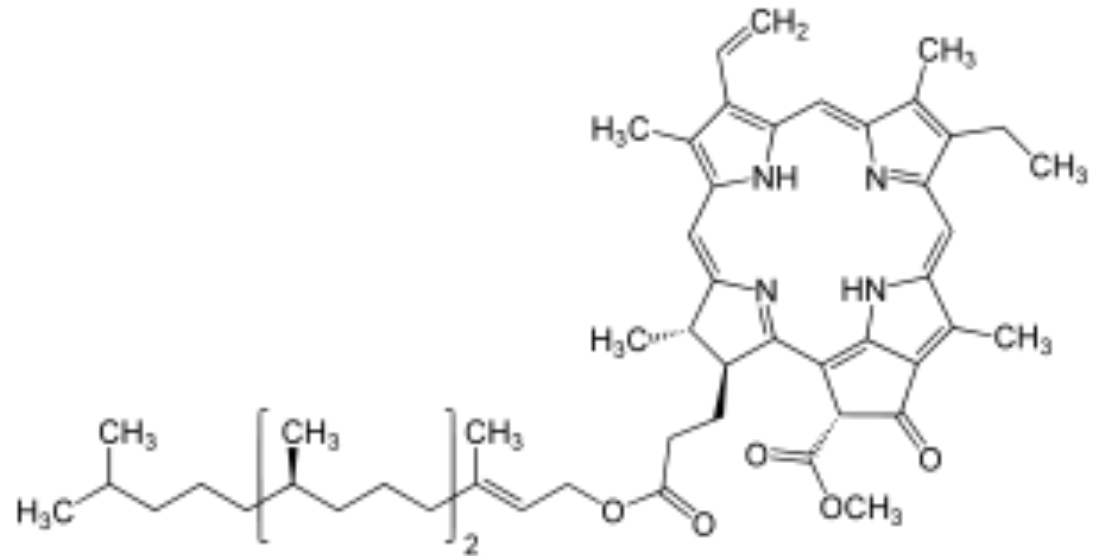


Щелочь отсекает от молекулы хлорофилла фитольный хвост, в результате образованная соль теряет способность растворяться в неполярных растворителях, но сохраняет зеленый цвет хлорофилла.

Следовательно, растворимость пигмента в неполярных растворителях, его гидрофобность обусловлена остатком фитола, а поглощение света связано с порфириновым ядром.

Атом магния также влияет на поглощение света молекулой хлорофилла.

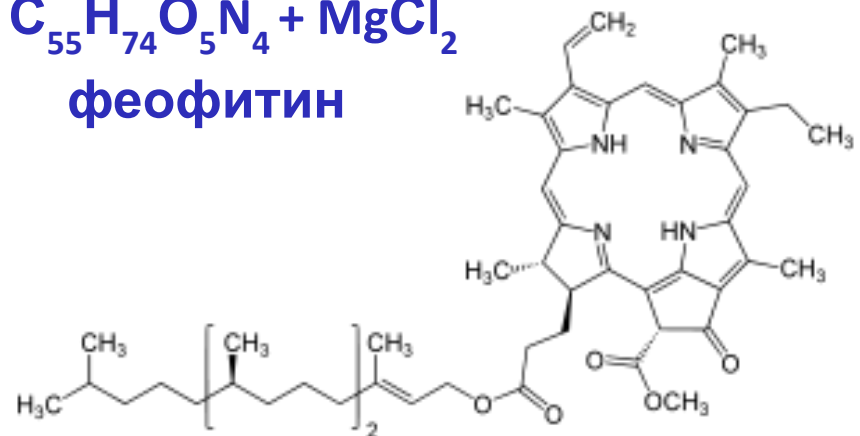
Если с помощью кислоты заместить магний на водород, то образовавшееся вещество (феофитин) принимает красно-бурый цвет вместо зеленого:



В природных условиях образование феофитина происходит осенью, при старении листьев, под воздействием неблагоприятных факторов. В результате листья желтеют.

Под влиянием различных факторов увеличивается проницаемость мембран, и кислый вакуолярный сок, проникая в хлоропласты, преобразует хлорофилл в феофитин.

Поскольку проницаемость мембран нарушается под воздействием разных факторов, то листья желтеют под воздействием низких и высоких температур, дефиците воды и ее избытке и т. д.



В настоящее время считают, что роль Mg в поглощении света связана с тем, что он, во-первых, изменяет симметрию молекулы хлорофилла таким образом, что молекула находится в одной плоскости, а это необходимо для сопряжения связей (одно из правил Хюкеля).

Когда молекула по каким-либо причинам принимает другую форму, то взаимодействие π -электронных облаков нарушается, цепь сопряжения разъединяется, цвет пигментов изменяется или пропадает.

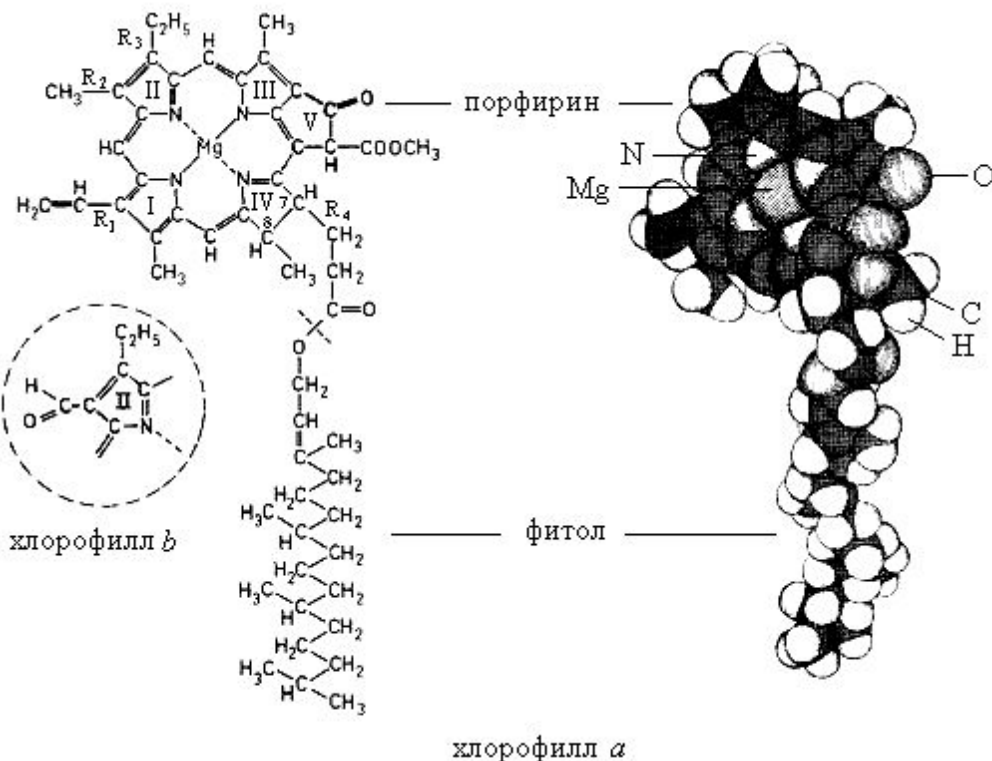
Во-вторых, магний придает молекуле хлорофилла способность образовывать координационные связи («соединяться») с другими молекулами хлорофилла .

В-третьих, магний необходим для сохранения возбужденного состояния молекулой хлорофилла. Так, тетрапиролы, содержащие вместо магния железо, быстро рассеивают свет. Это влияние, по-видимому, связано с поддержанием особо стойкой электронной конфигурации.

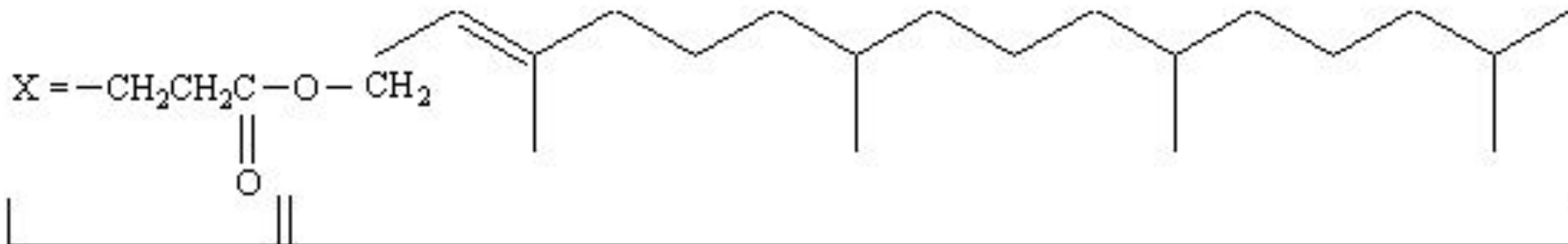
Хлорофилл *a* – основной фотосинтетический пигмент.

Он присутствует у всех фотосинтезирующих растений.

Другие формы (*b*, *c*₁, *c*₂ и *d*) – вспомогательные пигменты.



Тип хлорофилла	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Отсутствие атомов Н между С ₇ и С ₈ (двойные связи)
a	-CH=CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	X	Нет
b	-CH=CH ₂ -	-CHO	-CH ₂ CH ₃	X	Нет
c₁	-CH=CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	-CH=CH·COOH	Да
c₂	-CH=CH ₂ -	-CH ₃	-CH=CH ₂	-CH=CH·COOH	Да
d	CHO	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	X	Нет

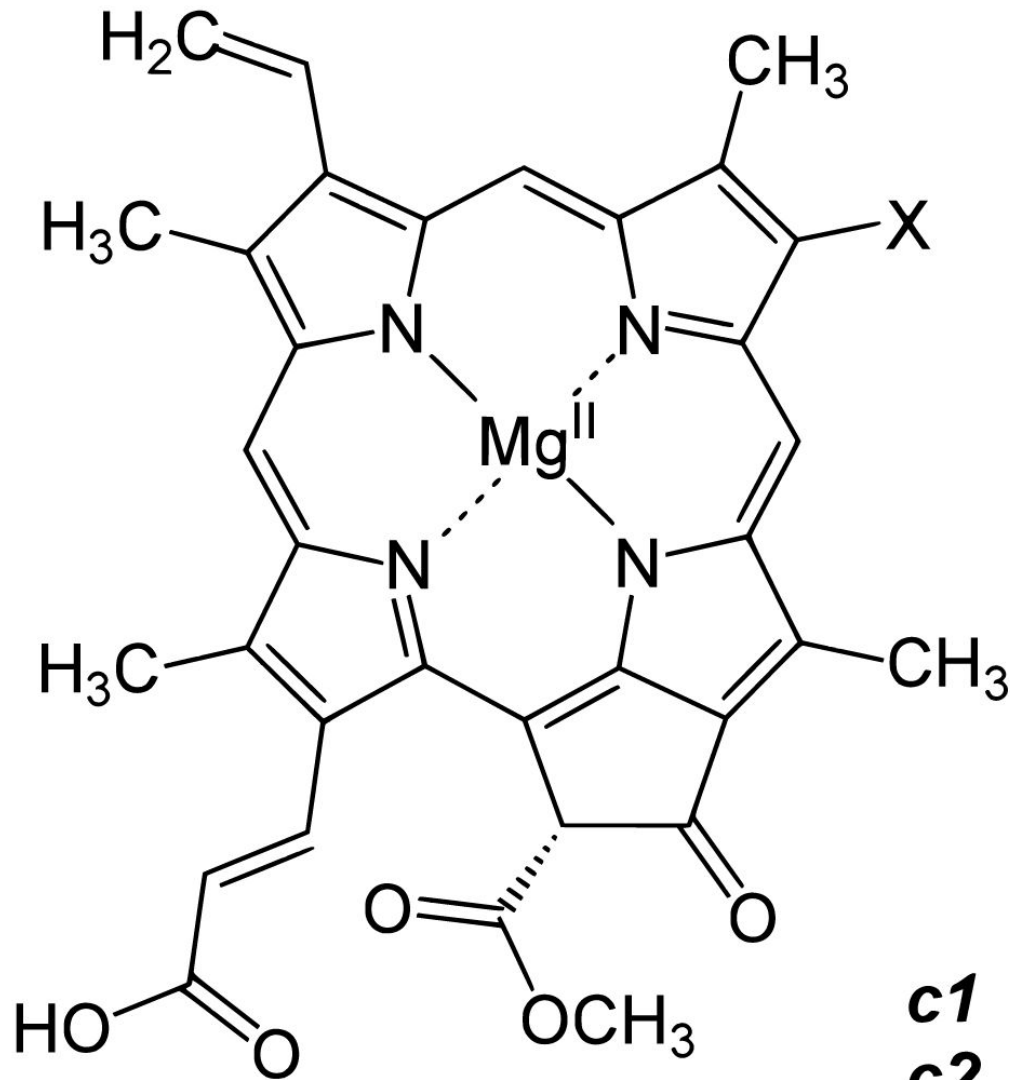


Пропионовая
кислота

Фитол

Тип хлорофилла	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Отсутствие атомов Н между C ₇ и C ₈ (двойные связи)
a	-CH=CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	X	Нет
b	-CH=CH ₂ -	-CHO	-CH ₂ CH ₃	X	Нет
c ₁	-CH=CH ₂ -	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	-CH=CH·COOH	Да
c ₂	-CH=CH ₂ -	-CH ₃	-CH=CH ₂	-CH=CH·COOH	Да
d	CHO	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	X	Нет

Особо важны для водорослей



Золотистый и
коричневатый
оттенок

c1 X: CH_2-CH_3
c2 X: $\text{CH}=\text{CH}_2$

Измерения поглощения света пигментами является сложной задачей, так как на свойства пигмента влияет растворитель и условия.

В диэтиловом эфире хлорофилл а имеет приблизительные максимумы поглощения 430 нм и 662 нм, хлорофилл в 453 нм и 642 нм.

Хлорофилл а флуоресцирует на 673 нм (максимум) и 726 нм.

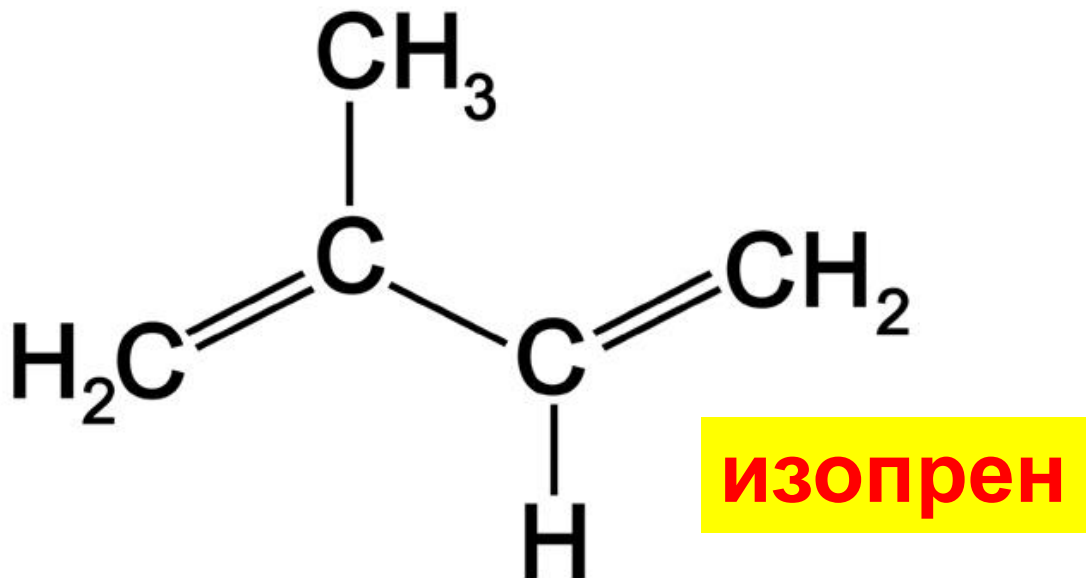
В 90% ацетоне (10% воды), для хлорофилла а пики поглощения находятся на 430 нм и 664 нм; для хлорофилла в 460 нм и 647 нм.

c1 - 442 нм и 630 нм; c2 - 444 нм и 630 нм; d - 401 нм, 455 нм and 696 нм.

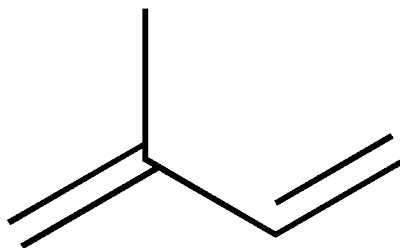
Каротиноиды – жирорастворимые пигменты желтого, оранжевого и красного цветов.

Они входят в состав хлоропластов и хромопластов незеленых частей растений (цветов, плодов, корнеплодов). В зеленых листьях их окраска маскируется хлорофиллом.

Каротиноиды являются тетратерпеноидами (8 остатков изопрена) и содержат 40 атомов углерода. Они представляют собой цепи, которые имеют, как и хлорофилл, двойные сопряженные связи.



Изопрен (короткая форма от «изотерпен») - 2-метил-1,3-бутадиен,



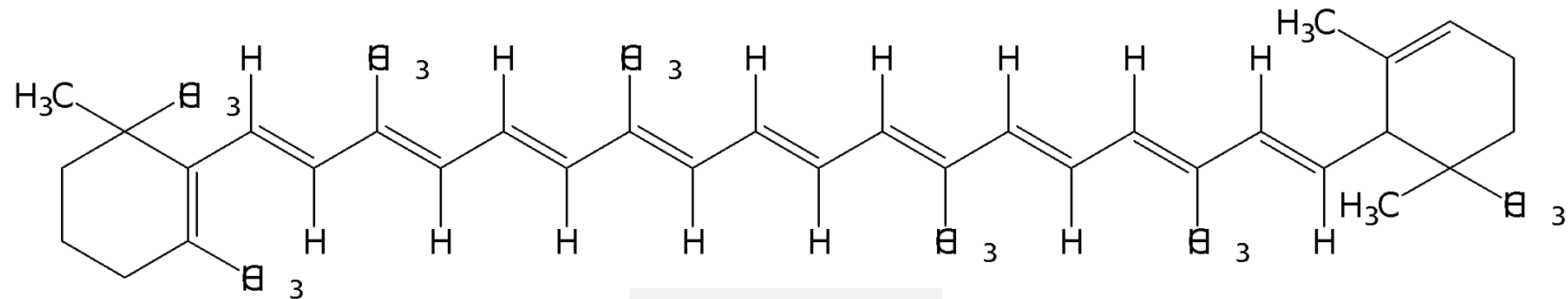
При нормальных условиях это бесцветная жидкость, имеет сильный запах, летуч, структурный «мотиф» (мономер) каучуковой резины и каротиноидов.

Длинные полимеры $(C_5H_8)_n$ образуются из фосфорилированных мономеров и средних олигомеров – диметилаллилдифосфата и изопентилдифосфата.

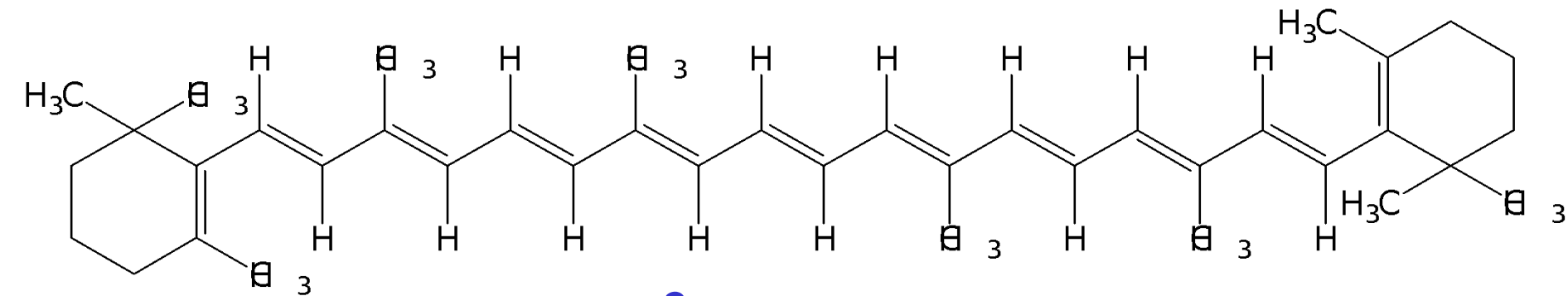
Изопрен – синоним терпена, множественное число изопренов и терпенов часто называют «изопреноидами».

Каротиноиды делят на две группы: каротины и ксантофиллы.

Каротины, например α -каротин ($C_{40}H_{56}$) представляют собой чистые углеводороды (тетратерпены):



α -каротин

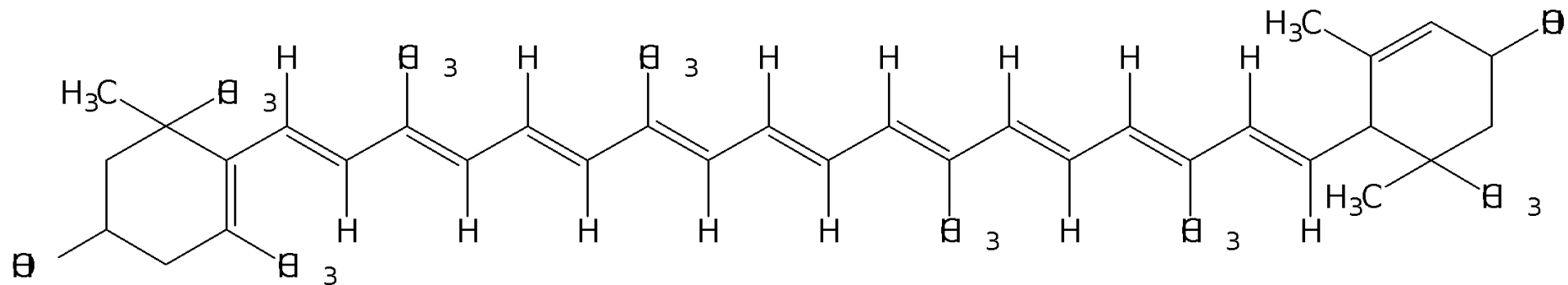


β -каротин

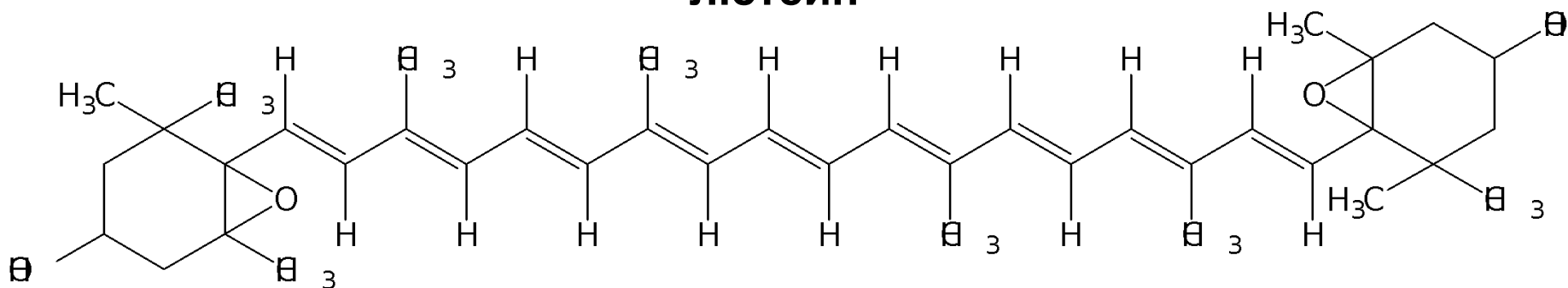
α -Каротин имеет одно β -иононовое кольцо (двойные связи между C_5 и C_6), а второе – ϵ -иононовое (двойные связи между C_4 и C_5).

β -Каротин отличается от α - тем, что имеет два β -иононовых кольца.

Ксантофиллы – лютеин $C_{40}H_{56}O_2$ и виолоксантин $C_{40}H_{56}O_4$ – окисленные соединения, содержащие кислород. Каротины имеют оранжевую или красную окраску, а ксантофиллы – желтую.



ЛЮТЕИН



ВИОЛАКСАНТИН

Ксантофиллы отличаются большим разнообразием, чем каротины, поскольку входящие в их состав кислородосодержащие группы могут быть самыми разными: это может быть гидроксильная группа, кетогруппа, эпоксигруппа и метаксильная группа.

Распределение и типы каротиноидов в растениях имеют глубокий эволюционный смысл; их соотношения можно использовать для таксономических целей.



Не только у растений!

Цвет яичного желтка происходит от ксантофильных каротиноидов лютеина и зеаксантина.

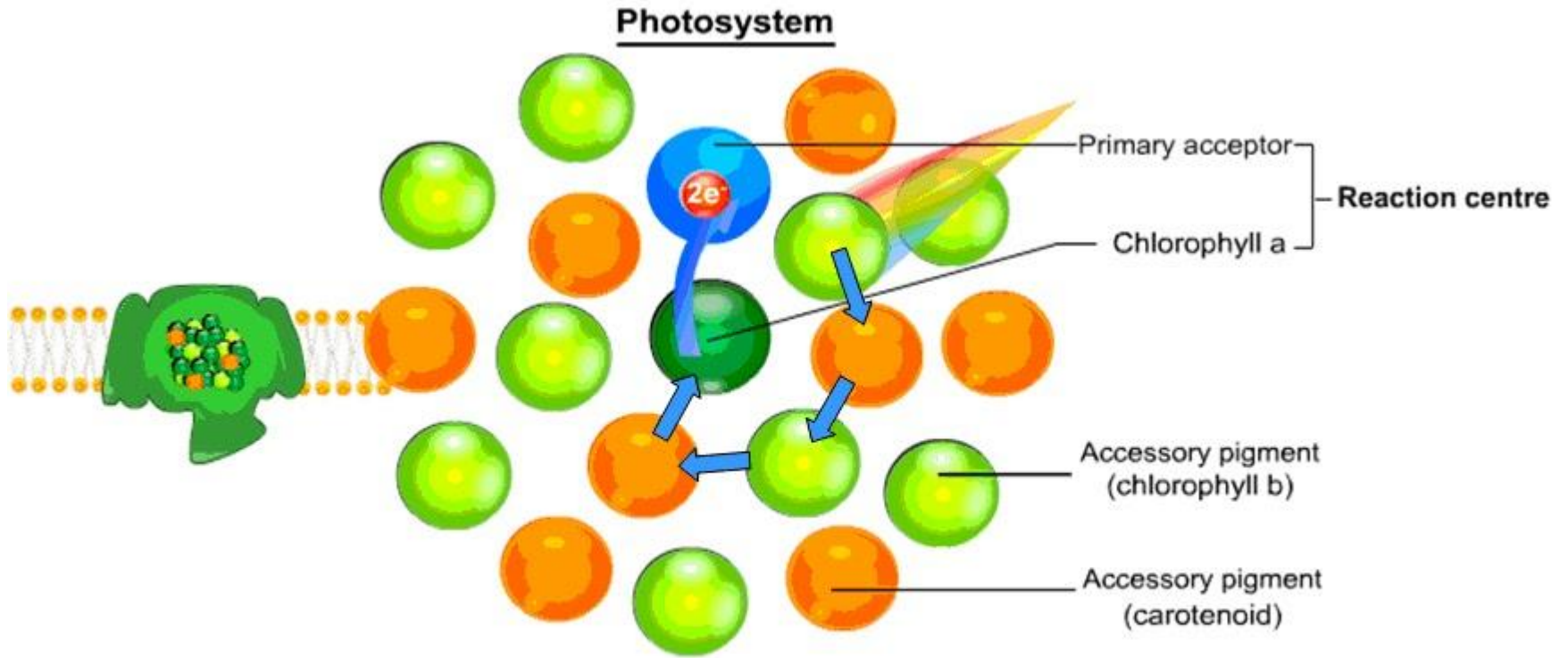


Относительная распространенность хлорофилла и каротиноидов в высших растениях составляет 4,5 : 1 (по некоторым расчетам квантосомы содержат примерно 230 молекул хлорофилла и 50 молекул каротиноидов).

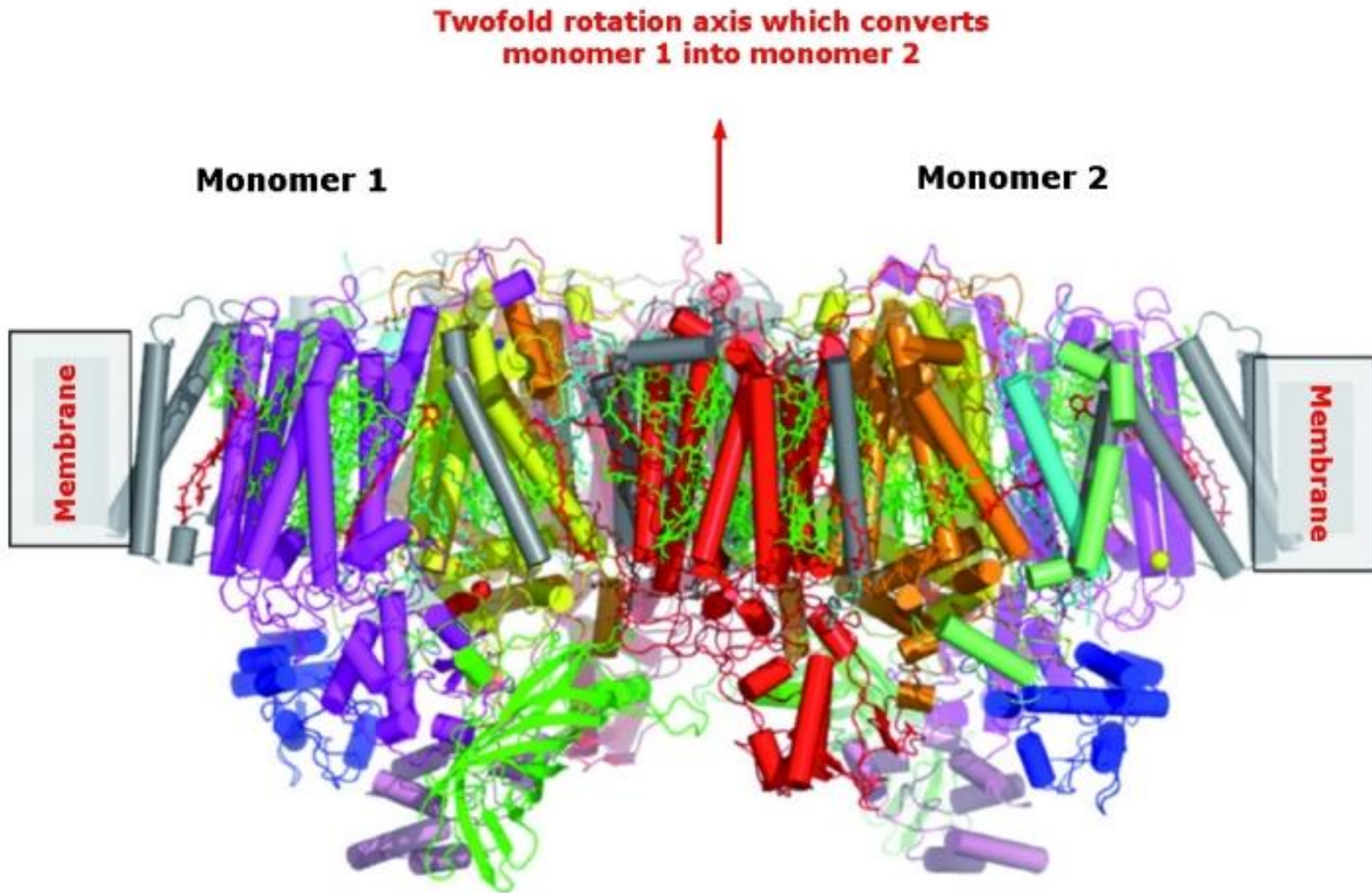
Животные обычно не синтезируют каротиноиды. Поэтому желтая и розовая расцветка птиц (например, канареек, фламинго), как и многочисленных беспозвоночных, обусловлена каротиноидами, которые они получают, поедая растения.

Молекулы каротиноидов имеют длину около 3 нм; те, которые принимают участие в фотосинтезе, обычно имеют 9 или более двойных связей.

Упрощенная схема вовлечения каротиноидов в работу ФС:

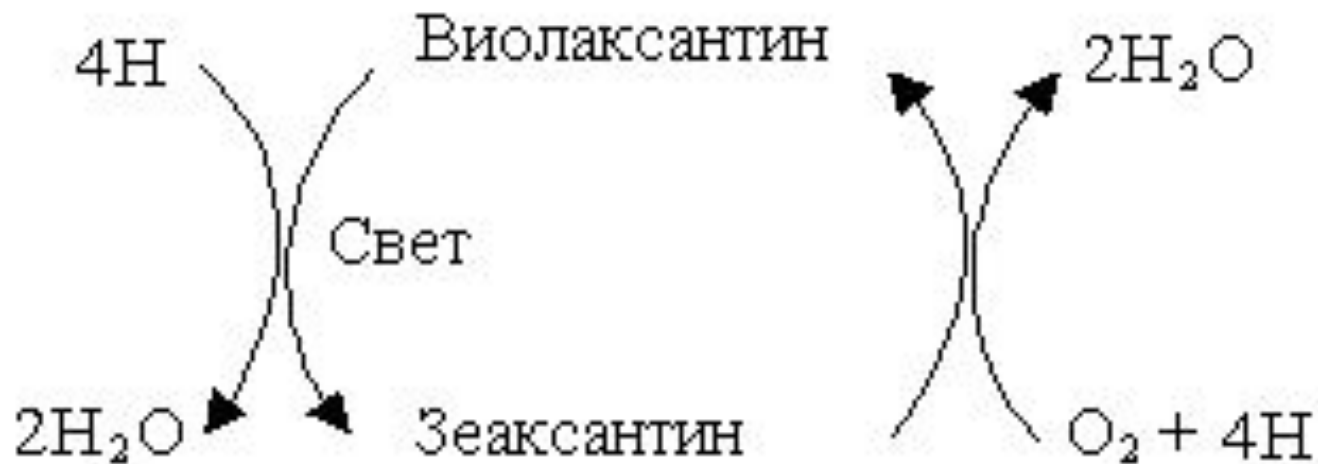


Настоящая схема – структура фотосистемы 2 (ФС-2)
Она встроена в тиллакоидную мембрану растений. Зеленых водорослей и цианобактерий. Содержит два мономера, каждый по 20 белков (разные цвета) и 92 «кофактора» (зеленый: хлорофилл; оранжевый: каротиноиды). Цилиндры - α -спирали. Стрелки: β -листы.



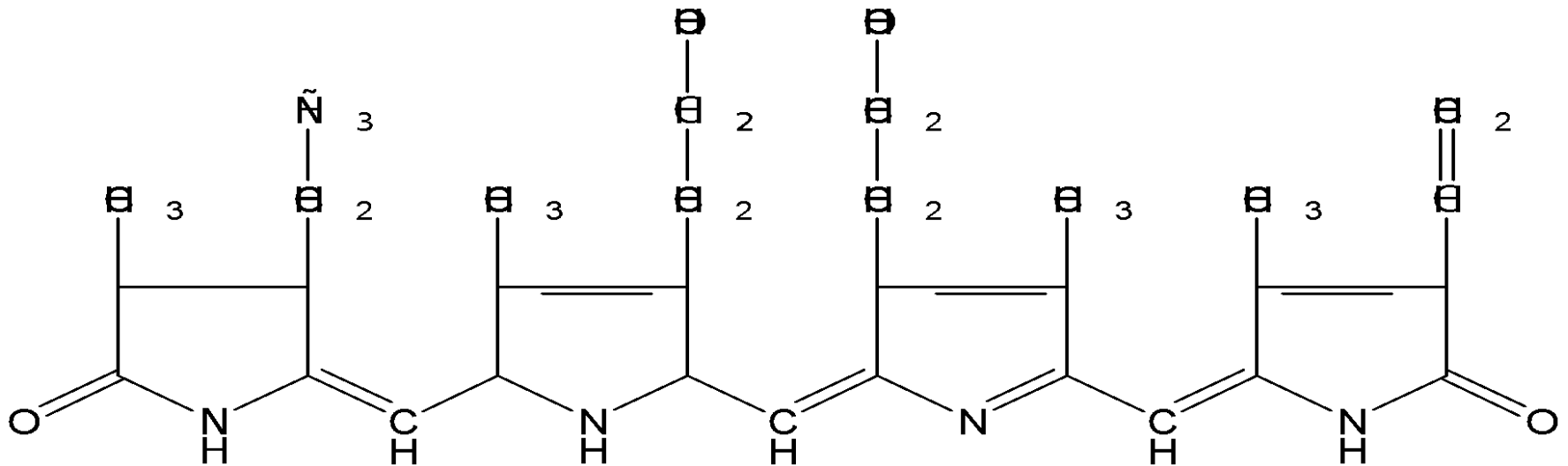
Функции каротиноидов:

- Улавливание и передача фотонов
- Детоксификация синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$), что предохраняет молекулы хлорофилла свето-собирающего комплекса от разрушения, а белки фотосистемы от денатурации
- Возможная роль в разложении воды
- Химический цикл альтернативного связывания электронов



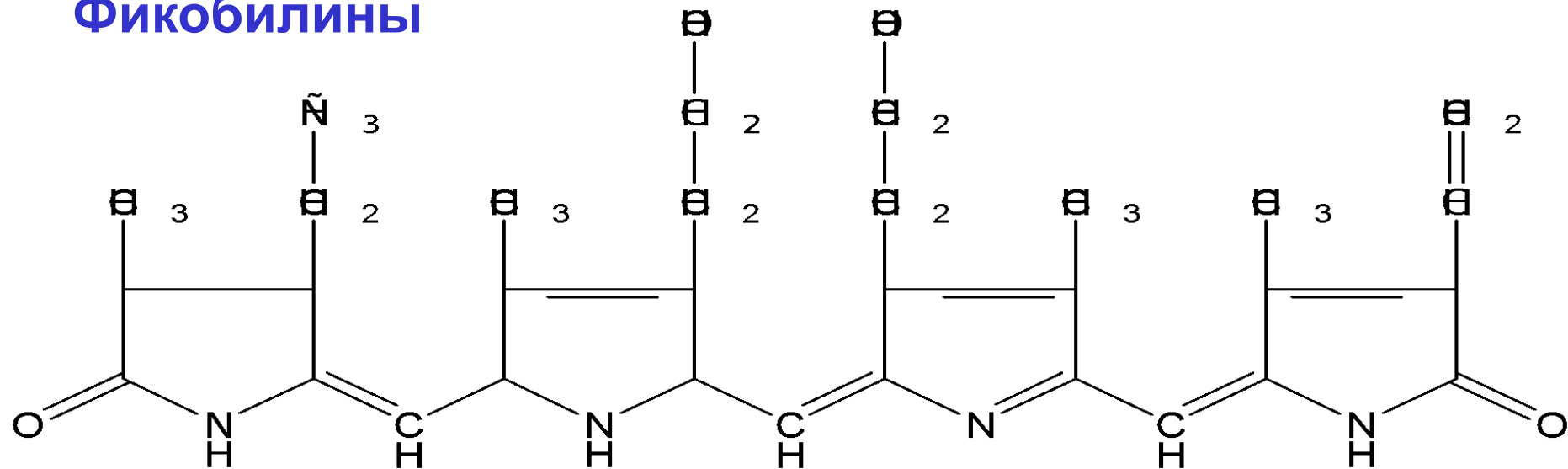
Фикобилины – тоже тетрапирроллы, но с открытой цепью, которые имеют систему конъюгированных двойных и одинарных связей.

У фикобилинов четыре остатка пиррола вытянуты в открытую цепь таким образом, что замкнутого порфиринового кольца в них не образуется. В своем составе они не содержат атомов Mg или других металлов, а также фитола. **Эти пигменты делят на две основные группы в соответствии с их цветом – красные (фикоэритрины) и синие (фикоцианины).**

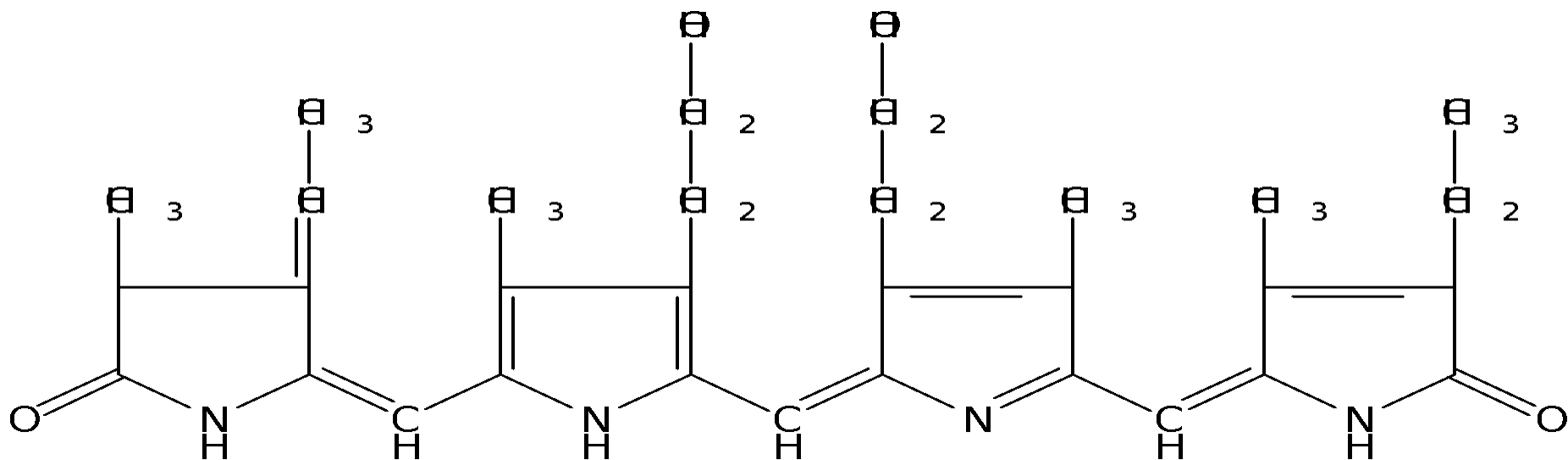


Фиткоэритрин

Фикобилины



Фикоэритрин



Фикоцианин

Фикоэритрин и фикоцианин состоят из двух разных белковых субъединиц: α (молекулярная масса ~ 19 кД) и β (~ 21 кД).

Стехиометрические отношения α - и β -субъединиц составляют 1 : 1.

Каждая из белковых субъединиц несет ковалентно связанный с ней фикобилин, при этом субъединицы, выделенные из разных организмов, могут нести разное количество молекул фикобилина – от одной до четырех.

Как правило, фикобилины, связанные с одной субъединицей, относятся к одному типу (т. е. к фикоэритробилинам или фикоцианобилинам); в результате получаются красные или синие субъединицы.

В некоторых случаях субъединица несет на себе два типа фикобилинов, но тогда один из них является преобладающим.

In vivo белковая субъединица встречается в виде агрегатов $(\alpha, \beta)_n$, где n равно 3 или 6, что соответствует молекулярным массам около 134 или 268 кД.

В клетках водорослей фикобилипротеины агрегируются один с другим, образуя гранулы, которые называются **фикобилисомами**. Фикобилисомы образуют упорядоченные ансамбли на поверхности тилакоидных мембран.

Все фотосинтетические пигменты (хлорофиллы, каротиноиды и фикобилины) входят в состав пигментных систем в виде хромпротеинов, т. е. пигмент-белковых комплексов.

Хлорофиллы и каротиноиды связаны с белками относительно слабо, связь между пигментом и белком нековалентная.

Поскольку такие связи легко нарушаются, хлорофиллы и каротиноиды можно экстрагировать с помощью органических растворителей (ацетон, спирт).

Фикобилины связаны с белком ковалентно, поэтому они находятся в виде молекул – фикобилипротеинов.

Фикобилипротеины растворимы в воде и легко вымываются из мацерированных тканей водой или разбавленными растворами солей. Однако для разрушения молекулы фикобилипротеинов путем расщепления связи между пигментом и белком необходим гидролиз с участием ферментов или нагрева в присутствии неорганических катализаторов.

Пики поглощения 495 и 545/566 нм, в зависимости от хромофора. Сильнейшее испускание на 575 ± 10 нм (пурпурное окрашивание).

Организмы	Хлорофиллы					Фикобилипротеины		Каротиноиды	
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i> ₁	<i>c</i> ₂	<i>d</i>	фикоэритрин	фикоцианин	каротины	ксантофиллы
Высшие растения, папоротники-мохообразные	+	+	-	-	-	-	-	β-Каротин α-Каротин	Лютеин Виолаксантин Неоксантин
Водоросли:									
Зеленые	+	+	-	-	-	-	-	β-Каротин	Лютеин Виолаксантин Неоксантин
Эвгленовые	+	+	-	-	-	-	-	β-Каротин	Неоксантин Диодиноксантин Виолаксантин
Бурые	+	-	+	+	-	-	-	β-Каротин	Фукоксантин Виолаксантин
Золотистые	+	-	+	+	-	-	-	β-Каротин	Фукоксантин
Желто-зеленые	+	-	-	-	-	-	-	β-Каротин	Неоксантин Диодиноксантин
Диатомовые	+	-	+	+	-	-	-	β-Каротин	Неоксантин Диодиноксантин Фукоксантин
Криптофитовые	+	-	-	+	-	+	+	α-Каротин β-Каротин	Аллоксантин
Красные	+	-	-	-	+	+	+	α-Каротин β-Каротин	Лютеин Зеаксантин
Сине-зеленые	+	-	-	-	-	+	+	β-Каротин	Эхиненон Миксоксантофилл Зеаксантин

Спектры поглощения фотосинтетических пигментов

Пигменты	Отличия в спектрах поглощения; длина волны, нм	Окраска
Хлорофилл <i>a</i>	670, 680, 700, 435	Сине-зеленая
Хлорофилл <i>b</i>	650, 480	Желто-зеленая
β-Каротин	425, 450, 480	Желтая
Лютеин	425, 445, 450	Желтая
Виолаксантин	475	Желто-оранжевая
Фикоэритрин	498–598	Красная
Фикоцианин	585–630	Сине-голубая
Аллофикоцианин	585–650	Синия

Спектры поглощения фотосинтетических пигментов

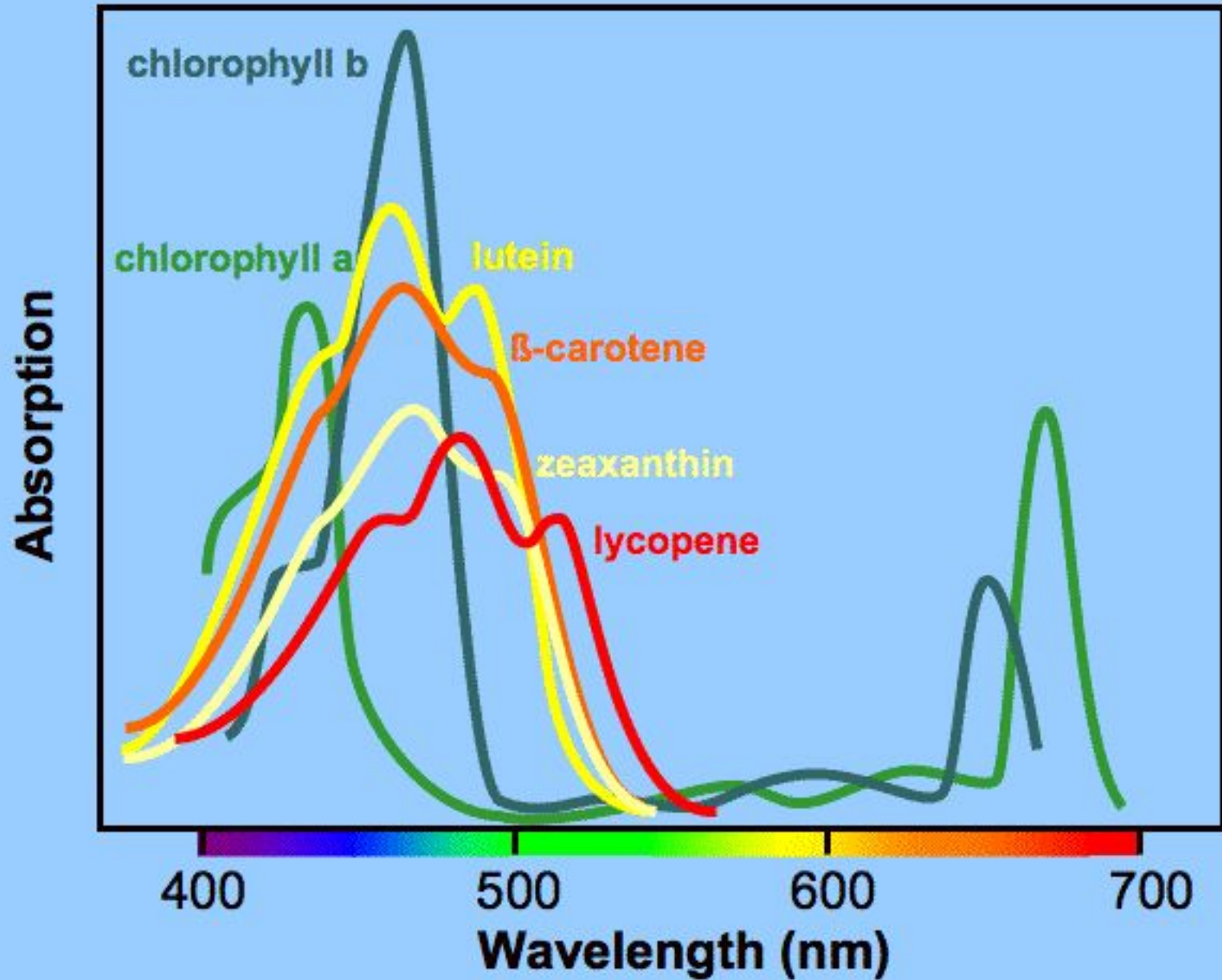
Какие длины волн будет поглощать пигмент, зависит от количества и расположения двойных связей в его молекуле, от присутствия в ней ароматических колец и атомов металла.

В случае хлорофилла наиболее полно поглощаются красные и сине-фиолетовые лучи. Небольшая разница в строении молекулы хлорофиллов а и b обуславливает некоторую разницу в поглощении ими света. Хлорофилл а более полно поглощает свет с длиной волны 670, 680, 700 и 435 нм, а хлорофилл b – 650 и 480 нм.

С наименьшим поглощением проходят через раствор хлорофилла или лист зеленые лучи и часть красных.

У хлорофилла b полоса поглощения в красной части спектра смещена в сторону коротковолновых лучей, а в сине-фиолетовой – в сторону длинноволновых.

The photosynthetic pigments absorb much of the spectrum



БИОСИНТЕЗ ПИГМЕНТОВ

1 стадия – исходным веществом в биосинтезе порфиринов является **сукцинил Co-A** (из лимоннокислого цикла) и глицин, из них образуется **δ-аминолевулиновая кислота**.

Этот путь характерен для микроорганизмов и животных. Реакция идет с участием фермента – АЛК-синтаза:

