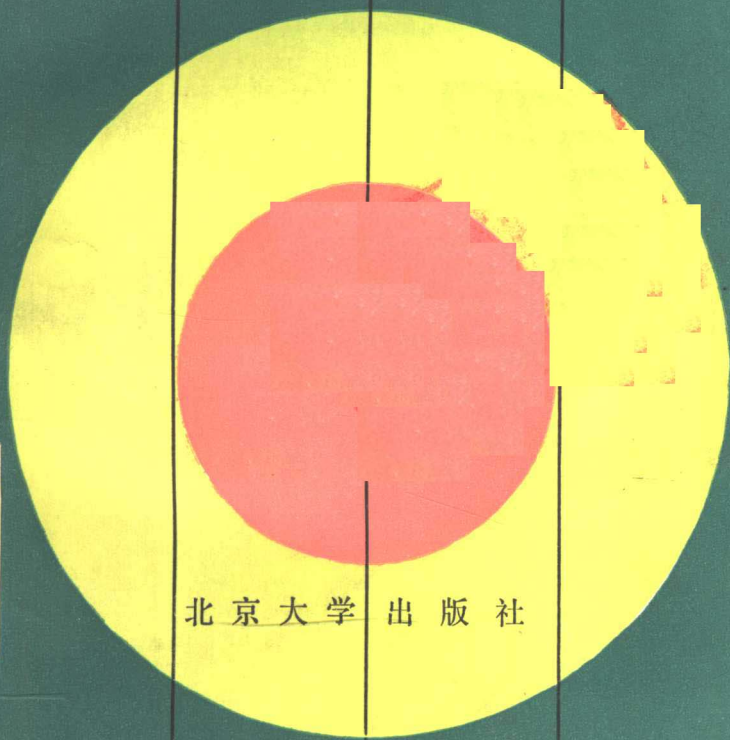
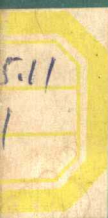


光 合 作 用

梅镇安 孙 琦 容寿榆 编著



北 京 大 学 出 版 社



光 合 作 用

梅镇安 孙 琦 容寿榆

北 京 大 学 出 版 社

光 合 作 用

梅镇安 孙 琦 容寿榆

责任编辑：李蕙兰

★

北京大学出版社出版

(北京大学校内)

北京大学印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

◆

787×1092毫米 32开本 6.75印张 140千字

1987年7月第一版 1987年7月第一次印刷

印数：00001—8,000册

统一书号：13209·118 定价：1.15元

前 言

光合作用是植物的生命活动现象，而且是地球上较重要的生物物理与生物化学过程。它利用太阳能将无机的二氧化碳和水转变成碳水化合物，为地球上的生命提供了能量。人们的认识过程总是由表及里、由浅入深、从现象到本质。自从二百多年前发现光合作用以来，对它也经过了这样的认识过程。从生理生态到生化机理，从生化机理到光化学与光物理反应，从二氧化碳的固定与还原、ATP与NADPH的形成到原初过程及氧的释放，均需植物生理学家、生物化学家、化学家与物理学家的通力合作，才有希望将这重大的课题逐步解决，才有可能揭开光合作用中的核心问题——太阳能的固定与转换。

光合作用研究工作的发展，与植物生理学、生物化学及物理学的发展不能分割，它已经成为一个跨学科的研究课题，不可能仅由植物生理学或生物化学的理论和实验技术得到解决，需要更多的物理学家的参加和新技术的引入，方能进入核心领域，才能完成这重大的课题。

本书的目的之一，是向植物生理工作者介绍一些目前光合作用研究中有关的物理学基础（第四章），并且向物理学工作者介绍光合作用的系统知识。另一目的是使植物生理专业高年级本科生在植物生理基础课的水平上对光合作用的认识有所提高、对进行光合作用研究工作有一个较全面的认识，亦为科研单位及高等院校光合作用方面的研究生的必修课提供教材。

光合作用可分光暗两种反应。暗反应主要是二氧化碳的固定与还原，对这方面已经了解得较清楚，基本上只剩下一些酶促反应有待进一步研究，故一般都将其纳入代谢，称之为碳代谢，本书内容不包括这部分。全书分八章：前三章是光合作用的器官与其基本组分；第四章是光和色素的相互作用，主要介绍有关的物理学知识，作为深入了解光反应的入门；最后四章从放氧、原初过程及电子传递链介绍目前一些研究前沿中较肯定的结论，并提出未决之疑点。给予光合作用光反应的全貌介绍。

此书由三人执笔。限于水平与时间，虽然主观上力求避免错误，然而错误在所难免，尚祈读者不吝赐予批评与指教，至为感谢。

编著者

1983年2月

目 录

第一章 光合器官——叶绿体.....	(1)
一、叶绿体的分布.....	(1)
二、叶绿体的一般性质.....	(2)
三、叶绿体的成分.....	(8)
第二章 光合色素.....	(26)
一、叶绿素类.....	(26)
二、类胡萝卜素类.....	(37)
三、藻胆蛋白类.....	(43)
第三章 色素蛋白复合体.....	(50)
一、类囊体膜上的类脂(及色素).....	(51)
二、高等植物与绿藻的叶绿素蛋白复合体.....	(53)
三、不含叶绿素 b 的光合有机体的叶绿素蛋白 复合体.....	(72)
第四章 光与色素的相互作用.....	(76)
一、光的性质.....	(77)
二、光的吸收与发射.....	(80)
三、光合色素对光的吸收与荧光发射.....	(86)
四、能量传递.....	(97)

第五章 光合作用的放氧过程	(107)
一、放氧的发现.....	(107)
二、早期的研究.....	(108)
三、放氧的周期性.....	(111)
四、放氧的四步模式.....	(113)
五、锰离子与放氧的关系.....	(118)
六、含锰蛋白的光活化过程.....	(123)
七、其他有关因素.....	(128)
第六章 细菌光合作用的原初过程	(133)
一、光合细菌作用中心——原初电子供体.....	(135)
二、原初电子受体.....	(139)
三、中间电子受体.....	(143)
四、微微秒光谱的研究.....	(147)
第七章 高等植物光合作用的原初过程	(154)
一、原初过程的认识过程.....	(154)
二、光系统 I 的原初过程.....	(157)
三、光系统 II 的原初过程.....	(168)
第八章 光合作用的电子传递	(179)
一、绿色植物中的光合电子传递.....	(180)
二、光合细菌中的光合电子传递.....	(190)
三、光合磷酸化作用.....	(196)
参考专著	(204)

第一章 光合器官——叶绿体

生物体的生长与发育取决于各种生理过程。这些生理过程又驱策着许多物理的、化学的与生物化学的反应，要使这些反应以最适速率进行与得到最有效的功能，势必要将细胞分化成各种特殊结构，并且自成一体与其他部分分开。因此活细胞分化成各种细胞器，每一细胞器都被一层膜所包围。这层膜就是生物膜，它们由蛋白质与类脂构成，它具有专一性与选择性。膜尚须与外界交换物质，并将同类功能的细胞集中并组织起来成为亚细胞结构；同时在膜的两侧建立离子势差，以便于能量传递与物质转换。植物在进化的过程中，为满足这种生存的要求，逐渐形成各种细胞器。叶绿体就是进行光合作用的细胞器。叶绿体被膜套（又称套膜或被膜）所包围，自成一体。保持捕获光能的最适条件，控制酶促暗反应，同时亦调节控制反应底物、中间产物与最终产物的运输。

一、叶绿体的分布

植物的大部分叶绿体存在于叶片的栅状组织与海绵组织中。亦存在于表皮气孔的保卫细胞（许多植物表皮细胞中的叶绿体发育不完全），茎秆的外表细胞，以及其他的绿色组织（如未成熟的花、果、荚和种子）中。在茎尖的分生细胞正在分裂的（或未分化的）与根中，均无叶绿体。各种植物的各种细胞中所含叶绿体的数量各不相同，但一般来讲，随着

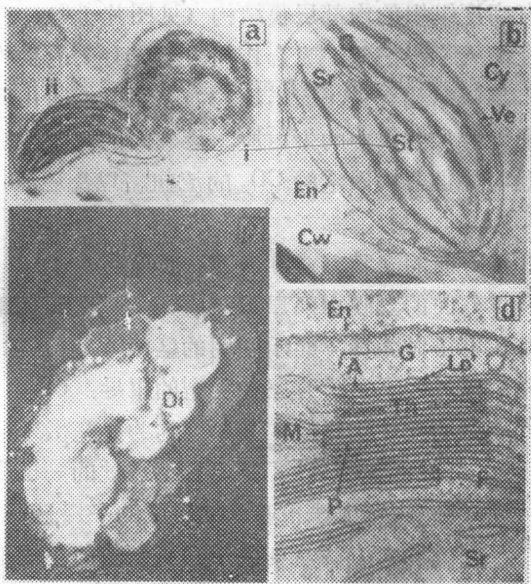
细胞的体积而增加：在展开的菠菜叶子中，每个栅栏细胞含有300—400个叶绿体，其他的叶肉细胞含有200—300个叶绿体。而成熟的土豆叶子中，前者是200—300个；后者是80—90个。这个数目相当于每一平方毫米的叶面积中含有38万个叶绿体（在栅栏细胞中占86%，而其他叶肉细胞中占14%）。在蓖麻叶子中，平均每个栅栏细胞只含36个叶绿体，平均每个叶肉细胞只含20个叶绿体。但是每一平方毫米叶面积中所含叶绿体却有50万个，栅栏细胞中占82%。可可树的叶子每个细胞只含三个叶绿体。在绿藻中有时每个单细胞藻体只有一个叶绿体。

叶绿体存在于细胞质中，贴近细胞膜的周围。在栅栏细胞中，叶绿体几乎排列成连续不断的一层。所有叶绿体含有叶绿素（它因此而定名），在有些藻类细胞中的叶绿体由于含有其他色素遮盖了叶绿素，使它们呈现棕色或赤红色。有些藻类叶绿体的形状亦是非常古怪的。在许多复杂的多细胞藻类中，假根，性器官与顶端细胞中可能缺少叶绿体，在藻体的其余部分满布叶绿体。

二、叶绿体的一般性质

（一）表观形态

从高等植物叶片的超薄切片电镜透视观察中，经常看到叶绿体呈凸透镜形，长轴约长5—10微米（见图片Ⅱ）。这个图片显示了内部层膜垛叠的情况。如果切片与质体的主面平行，叶绿体与内部层膜都呈现圆盘形（见图片Ⅰa）。这些结果与早期所得到概念是相一致的。认为叶绿体的主体是由均一直径的圆盘层膜垛叠成柱型而成。与光学显微镜观察的结



图片 I 高等植物叶绿体在电子显微镜下所显示的结构。

(a) 在一个蚕豆 (*Vicia faba*) 细胞中两个叶绿体的截面图；

(i) 平行于内片层主平面；

(ii) 垂直于内片层主平面，钨酸染色，放大一万倍。

(b) 在套膜 (En) 以内，及其邻近显示一些小圆片 (Ve)，并与套膜内壁相连，放大两万倍；

(c) 在 0.3M 葡萄糖制备所得蚕豆叶绿体，显示基粒与片层间质的正面观，放大三万六千倍；

(d) 菠菜 (*Spinacia oleracea*) 叶绿体基粒 (G) 的截面。类囊体 (Th) 与中央空间 (A) 整齐排列成分隔 (P)。基粒之间以片层间质或以通纹片层 (F)，通过片层间质 (Sr)，互相连接。放大 9 万倍。

果一致。

(二) 叶绿体主要结构

叶绿体主要的结构区域有：外部双层套膜（见图片 I b、d），无定型的间质（包括类囊体间质、片层间质）及其内含

物，还有高度组织的内部层膜结构（见图片 I d），三部分组成。现在，人们很清楚：光合作用中与光有关的生物物理反应与内部层膜结构有关，而暗反应如： CO_2 的同化取决于类囊体间质及片层间质中的蛋白质。最外面的套膜是有选择性的半透膜，它调节被固定的 CO_2 的流向。以及还原能与化学能的平衡与分配。

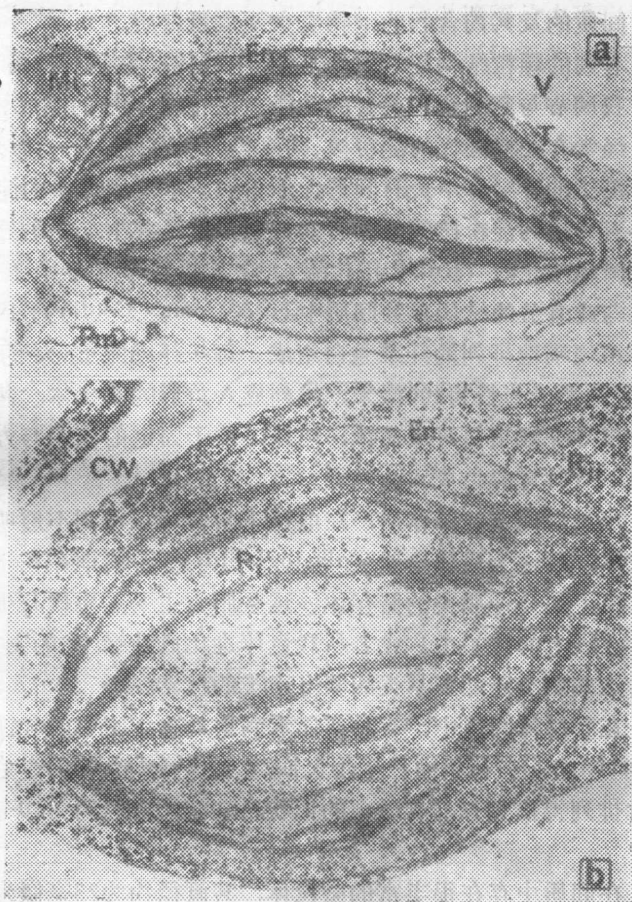
1. 最外面的套膜（或称被膜、膜套）

叶绿体外面的套膜由两层膜组成，两膜之间相距约10毫微米，是在电子显微镜下显示透明的区间。

一般来说，关于套膜有三种类型的报导：(a)由两层电子密集的典型的膜结构组成，其厚度约为2毫微米，中间相隔距离较远（10毫微米）；(b)是电子不透过的一层膜组成，厚度为10毫微米；(c)由球状亚单位组成的一层膜。这些报导都是在不同的固定方法与染色下，所反映的不同情况。目前被人们接受的一种报导认为双层套膜包于叶绿体的最外层，内层比外层似乎稍薄。

此外人们认为这种套膜在形成新的内部片层过程中也起了一定的作用。在许多报导中都注意到套膜内层膜分化成叶绿体内的片层的初始小泡芽状体，多数人认为这些小泡融合成为片层。早期 Menke 于1962年确认类囊体是由套膜内层延伸而成。亦不排除与内层无关的另外途径形成叶绿体的片层结构。但是，还存在与这些结论相矛盾的许多实验事实，最近从分析叶绿体套膜的脂类组成，发现它们完全不同于内部片层中的脂类。目前虽有条件可以将叶绿体套膜与片层，分别分离以后进行分析研究，但是尚未得出详细的生物合成的步骤与过程。要得出最后的结论为时尚早。

2. 间质（类囊体间质与片层间质）及其内含物



图片 I 菠菜叶绿体的切面图。(在不同染色条件下)(a) 用柠檬酸铅染色, 重点显示类囊体片层膜与质体小球 (Pl), 放大二万二千倍; (b) 先用醋酸铀染色, 再用柠檬酸铅, 显示微粒体 (Ri) 或 (Rii)。微粒体 (Ri) 比细胞质中的微粒体 (Rii) 要小。

套膜所包内部的颗粒结构即成间质，间质中也有片层系统。间质的及其内含物的干物质主要是蛋白质。

看到的颗粒结构是微粒体与 DNA 线体。它们对叶绿体的自我调节与复制负有重要的功能。在叶绿体内的片层之间，经常存在椭圆形的淀粉核，其直径大小可达1.5—2微米，各种藻类的叶绿体中含有圆形、多角形或不规则形状的淀粉核。有人认为淀粉核的外围有两种蛋白质，其中之一是五碳糖双磷酸羧化酶（RuDP 羧化酶）。在某些高等植物中有人发现与此有关的结构称为间质中心（Stroma Center），间质中心由规则地排列的纤维旦白组成。每一纤维直径大约为8.5毫微米，其长为200微米，排列成六角形的囊状体。甚至有人报导纤维蛋白可成晶体，但是，由于固定的条件与方法不同，有时可能造成人为假象。

用鞣酸固定叶绿体后，在电镜下常常可以看到不透明的小球体，称之为质体小球（plastoglobuli），游离地存在于间质之中，是一种脂类的储存体。这些脂类主要是质醌与生育醌。在衰老的叶子中，或者从载色体进化成叶绿体的过程中，这些脂类还能积累类胡萝卜素类的色素。

在叶绿体间质中，有时亦能看到象动物细胞中的含铁素（ferritin）。在植物中称植物含铁素（phytoferritin），它们常常排列得很整齐，有一定的形状。它们的直径约为10毫微米。

在间质中存在很丰富的微粒体，其直径约为25毫微米。在应用适当的细胞学与放射自显影的技术可以证明微粒体为聚合体（polysome）附着于叶绿体膜上。微粒体含有 RNA，对合成蛋白质起重要作用。可用类似的方法证明叶绿体含有 DNA，它形成网孔间隙为2.5毫微米的纤维状结构。

3. 内部层膜结构（内膜系统——类囊体片膜层）

内部片层系统的结构极其复杂。从电镜图片中可以看到两个膜结构的性状。第一部分是类囊体片层垛叠的区域称为基粒片层（基质片层）（图片 I，d），即是在光学显微镜下所见；第二部分是稀疏地分布于基粒之间的间质片层。

从图片 I 中，可以看到早期所肯定的资料。由间隔开的盘形囊状片层垛叠成柱状称为基粒，每一小片直径约为 0.2—0.4 微米。基粒与基粒之间以类似结构的片层相联结，即称之为基粒间片层（或称为间质片层）。最近几年来，从电子显微镜观察所得的结构重绘于图 1.1。基粒间片层可以与一基粒在不同水平多处相连，又与其他许多基粒相连，形成回纹网络。这样的结构已经广泛地在高等植物（玉米、蚕豆、金鱼草、豌豆与菠菜等）中发现。

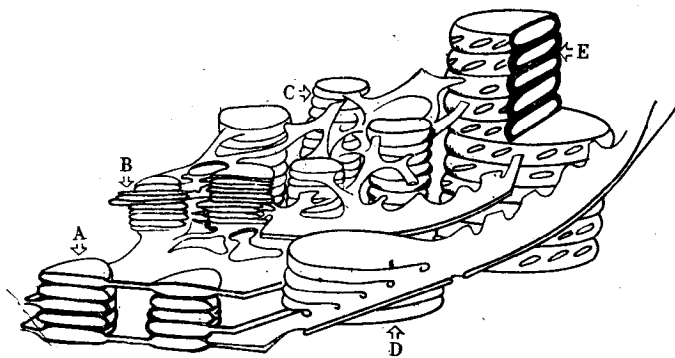


图 1.1 高等植物叶绿体基粒片层（类囊体片层）垛叠进化的草图。

(A) 最初研究结果认为单独的盘（小囊状体）形成的基粒，这些盘又由大的间质盘（大囊状体）相联结；(B) 多孔回纹间质在不同水平连接基粒；(C) 在一个基粒中以回纹间质与几个基粒相连；(D) 基粒片层的螺旋形式；(E) 螺旋型网络排列于基粒周围与基粒之间。

类囊体片层的结构

在高分辨率的水平下，才能观察到类囊体片层的结构，但是，这些观察有时因固定方法与所用材料的不同而有所差异。主要认为有三维结构与球蛋白排列组成类囊体片层膜。以大多数的超显微结构观察认为类囊体片层膜是由球蛋白排列而成，并有亚单位的双层与亚单位的单层回纹形成间隔。

以上的结果，大多数来自冰冻蚀刻技术，因为各人的解释不同，与命名比较混乱，所以，对于片层的结构方面还有许多不同的意见。

三、叶绿体的成分

金鱼草的单个叶绿体的干重测定为25—30微微克，玉米的是27微微克或35—38微微克。菠菜的叶绿体较小。它们的叶绿素含量为干重的4.3%，从这个数字推算出菠菜叶绿体的干重应为9.4微微克。活的新鲜的叶绿体与干燥的相比较，得出它们的含水量为70—80% (V/V)。从水溶低渗介质提取的叶绿体，常常套膜被涨破，而成为裸露的叶绿体，因而大部分间质内的物质被丢失，用这样制备的叶绿体来研究它们的组分，是不合适的。如用有机溶剂提取，亦不能令人满意，因为丢失了一部分脂类物质。表1.1是用两种溶剂提取菠菜，金鱼草分别得到的叶绿体的化学成分的对照结果。

(一) 蛋白质

叶绿体所含蛋白质约占干重的60%，而大部分均为参予光合作用的活性蛋白质。

从 SDS-PAGE(十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)得到叶绿体所含蛋白质的分子量为 20×10^3 — 70×10^3 。

表1.1 高等植物完整叶绿体的化学成分

成 分	占叶绿体干重的百分比	
	菠 菜	金 鱼 草
蛋白质总量	60	52
水溶性蛋白	27	27
非水溶性蛋白	33	25
类脂总量	20	21
叶绿素	4.3	4.4
类胡萝卜素	0.9	0.8
无色类脂	14.8	15.8
RNA	1.7—3.5	≈1.0
DNA		≈0.025
自由氨基酸	2.5	
正磷酸盐与光合 中间产物等	0.7	
离子(K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} Ca^{+2} 、 Cl^-)	} 3.6	
多糖 (除去淀粉)		≈0.6
已糖胺	0.2	
淀 粉	不定	不定

1. 类囊体片层蛋白质

叶绿体含有叶子的大部分蛋白质，是叶子总含氮量的75%（烟草与蚕豆）。可将这类蛋白质粗分成水溶性与非水溶性两部分；水溶性部分主要由间质中的酶蛋白（活性蛋白）组成；非水溶性部分由色素载体，电子传递体与类囊体片层的结构蛋白所组成。在非水溶剂制备的叶绿体中，测出水溶性蛋白与非水溶性蛋白之比：菠菜为1.22:1；金鱼草为0.94:1，类囊体所含蛋白质占叶绿体干重的27%。

类囊体片层蛋白质的增溶与电泳

为了研究类囊体蛋白的结构与功能,需要使其溶解,一般用去污剂可以达到这一目的。效果最好的是十二烷基磺酸钠 (sodium dodecyl sulphate) 一般都称为 SDS。如以 SDS 增溶类囊体蛋白,色素与蛋白质在超速离心沉积成一条界面。用增溶剂(去污剂)后,形成蛋白去污剂复合物,菠菜叶绿体的色素蛋白去污剂复合物的沉降系数 (sedimentation constant, 以 S 表示),随所用 SDS 的浓度而变化。SDS 浓度为 60.25% 时,沉降系数为 $2.3S$; 2.5% 时,为 $1.7S$ 。如果将色素与脂类除去,将蛋白质溶于 0.002% SDS 时,蛋白质浓度与沉降系数成反相关。类囊体蛋白随着 SDS 浓度增加而沉降速度减慢的原因,至今未明。

由超速离心分析获悉 40% 的去脂类囊体蛋白质是由 $S_{20}^w = 2.3$, 分子量为 $22 \times 10^3 - 25 \times 10^3$ 蛋白质分子所组成。从聚丙烯酰胺凝胶电泳的分析得到更多的资料,一般可分成 10—16 个区带,但也有分析结果区带多达 33 条,甚至 50 条。最浓区带的分子量为 24×10^3 。人们公认这部分的蛋白是捕光叶绿素 a/b 蛋白。叶绿体经过不同分级分析,与不同植物叶绿体的比较研究,知道这部分蛋白质,实质上由两类蛋白质分子组成。它们的分子量相差 2×10^3 。它们的含量并不相等,但相差不远。分析衣藻的类囊体蛋白质时,这两条带很明确,但在高等植物中,某些植物显示这两条带而某些植物又不显示。

氨基酸成分

在许多不同的高等植物与藻类中类囊体总蛋白(包括水