

編 号: (75)003

內 部

出国参观考察报告

美国植物光合作用研究概况

科学技术文献出版社

一九七五年七月

50.577

出国参观考察报告

美国植物光合作用研究概况

(内部发行)

编辑者：中国科学技术情报研究所

出版者：科学技术文献出版社

印刷者：中国科学技术情报研究所印刷厂

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

开本 $787 \times 1092 \cdot \frac{1}{16}$ 1.5印张 44千字

统一书号：16176·1 定价：0.20元

1975年7月出版



毛主席语录

列宁为什么说对资产阶级专政，这个问题要搞清楚。这个问题不搞清楚，就会变修正主义。要使全国知道。

自力更生为主，争取外援为辅，破除迷信，独立自主地干工业、干农业、干技术革命和文化革命，打倒奴隶思想，埋葬教条主义，认真学习外国的好经验，也一定研究外国的坏经验——引以为戒，这就是我们的路线。

目 录

一、研究情况介绍.....	(1)
(一) 原初反应、放氧及电子传递.....	(1)
(二) 光合磷酸化.....	(4)
(三) 叶绿体的结构与功能.....	(6)
(四) 二氧化碳的同化、大田光合作用及测定.....	(10)
(五) 能源问题——太阳能生物转换利用的研究.....	(13)
(六) 新技术和仪器应用情况.....	(15)
(七) 其它.....	(16)
二、考察单位简介.....	(17)

美国植物光合作用研究概况

中国植物光合作用考察组

中国植物光合作用考察组一行八人，于一九七四年十一月十七日至十二月十八日在美国进行了历时三十二天的考察，在此期间参观了八个地区共十四个单位。现将了解到的美国植物光合作用研究情况分专题综述如下，供参考。

一、研究情况介绍

我们这次考察的光合作用研究主要为原初反应和放氧、光合磷酸化、叶绿体结构和功能、新技术及仪器的应用、二氧化碳同化和大田光合作用及测定、光能的生物转换等方面。为了说明方便起见，兹将在这次访问中，加利福尼亚大学的索尔（Sauer）所示的表明光合作用各过程之间相互关系的图解介绍如下（图1）。

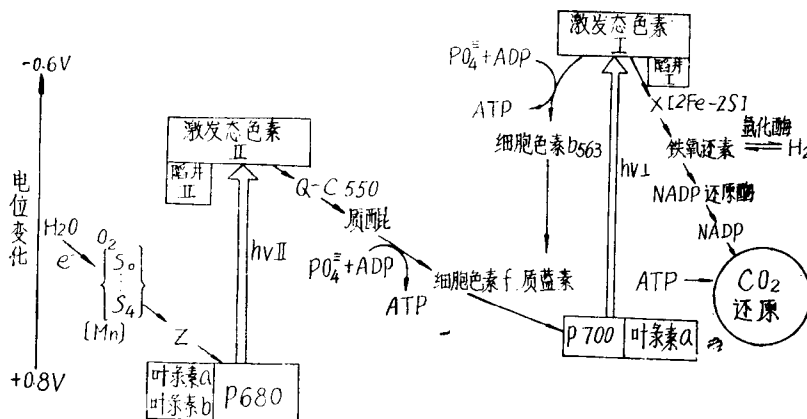


图1 光合作用过程图解

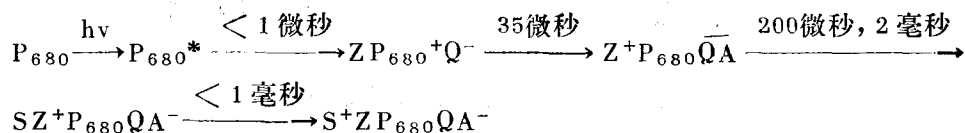
（一）原初反应、放氧及电子传递

从图1可以看到，这是互相联系很紧密的一些问题，现分述如下。

1. 原初反应

按现在比较一致的看法（参看图1），植物光合作用中牵涉两个光化学反应，一个与放氧有关，称光系统II，一个与具有高还原能力的物质的形成有关，称光系统I。光合细菌中一般认为只有一个光反应，与植物中的光系统I有些类似，由于其研究常与作用中心的分离提纯联系在一起，故在膜的结构与功能一节中介绍。

关于光系统Ⅱ原初反应的情况，加州大学化学系的布兰肯希普 (Blankenship) 和索尔概括其有关动力学过程的知识如下：



上式中 P_{680} 为作用中心叶绿素，Z 及 Q 分别为原初电子供体和受体，S 及 A 分别为次级电子供体和受体。他们改进顺磁共振装置使它的感应时间小于 100 微秒，以便观察叶绿体的光系统Ⅱ在短闪光 (10 微秒) 后的光反应所引起的顺磁共振瞬间变化。他们测得的瞬间信号与信号Ⅱ (SignalⅡ) 类似，因此称为快速信号Ⅱ (SignalⅡ_{vf})，以与对光不大变化的信号Ⅱ相区别。他们用 Tris 洗涤叶绿体破坏放氧端的由水来的电子供给后，发现此信号消失大为减慢，如再加入 Mn^{++} 代替水作电子供体时则光诱导的信号变化几乎不发生。因此他们初步认为此信号可能来自光系统Ⅱ放氧端的电子供体 Z，但尚在寻找更肯定的证据。

加州大学细胞生理系的马尔金 (Malkin) 研究叶绿体在低于液氮温度时的光系统Ⅱ的变化，他认为这样可以排除次级电子传递而专门了解原初反应。与他同实验室的纳夫 (Knaff)，阿农 (Arnon) 等曾在低温条件下发现有一 C_{550} 变化与光系统Ⅱ原初电子受体相联系，和一可作 P_{680}^+ 的电子供体的细胞色素 b_{559} 的变化 (此细胞色素 b_{559} 的变化，索尔等不少人认为是低温条件下出现的异常反应)。他最近观察到氧化态 P_{680} 自由基的顺磁共振信号，它可逆地在激光闪光后产生，在 35°K 时以 5 毫秒的半寿命衰退。此可逆变化在细胞色素 b_{559} 已氧化的情况下仍能发生，因此他推测 P_{680}^+ 与原初电子受体在低温下的逆转反应速度比细胞色素 b_{559} 与 P_{680}^+ 间电子转移反应的速度快。他还发现在低温下当 C_{550} 的变化用氧化剂去除后，闪光下的 P_{680} 的可逆顺磁共振信号仍可产生，所以，他认为 C_{550} 大概不是原初电子受体而是一个与膜结合的原初电子受体的氧化还原指示物。

亨特学院的伯奇 (Bertsch) 等研究叶绿体热发光的情况认为，光系统Ⅱ作用中心的量子转变可能有三个不同的能量贮存类型 (BBA357:420, 1974)。

关于光系统Ⅰ原初反应的情况，一般都认为马丁，玛丽埃塔实验室科克 (Kok) 发现的 P_{700} 的确是作用中心起光反应的叶绿素。凯特林研究室的葛培根 (Bacon Ke) 从光谱变化的动力学分析，认为 P_{430} 为光系统Ⅰ的原初电子受体。近来证明，它可能是一个中点电位为 -530mv 的结合态铁硫蛋白 (3rd Intern. Congress on Photosynthesis)，其性质在继续进行研究。加州大学生物物理系的比尔登 (Bearden) 等在液氮温度下进行顺磁共振研究，也观察到有一光系统Ⅰ的还原原初电子受体的信号，他们从其特征分析，认为是一个铁硫蛋白的还原态。最近，阿农实验室从叶绿体的光合膜中分离到一个结合态的铁硫蛋白，与铁氧还素类似，但其顺磁共振信号与结合态铁氧还素不同。工作正在继续进行。

布鲁海文国家实验室的哈德 (Hind) 等从光谱变化的动力学分析认为细胞色素 b_6 不可能是光系统Ⅰ的原初电子受体。

1969 年纳夫和阿农曾主要根据离体叶绿体还原 $NADP^+$ 时无双光增益效应而提出过叶绿体中有三个光化学反应，现因加州大学的孙士铤 (Alexander S. K. Sun) 等发现在提高反应液中 Mg^{++} 浓度时可出现双光增益效应 (BBA256:409, 1972) 等原因而不甚坚持了。

关于两个光系统的色素系统，卡内基研究所植物生物学研究室的傅蕴曲 (French) 和布朗 (Brown) 发现各植物中普遍存在着叶绿素 a 的四种存在状态 (Plant Physiol. 49:

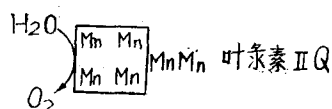
421, 1972), 他们现在仍在研究其与功能的联系。凯特林研究室的西利 (Seely) 考虑了一个光合单位模型, 说明不同状态的色素的合适排列比单纯色素的排列更有利于光能传至作用中心, 他并且计算出只要关键部位的六个色素分子的定向改变就足以调节两个光系统间的光能分配 (J. Theor. Biol. 40:189, 1973)。

布鲁海文国家实验室的费奇 (Fajer) 在对叶绿素或其类似物以 ^1H 或 ^{13}C 代替一些部位的 ^1H 或 ^{12}C 后, 观察它们对这些物质的自由基的顺磁共振信号的影响, 希望从而了解叶绿素分子各个部分在进行原初光反应时的作用。

2. 放氧

这仍是光合作用过程中很不了解的一部分。科克等在继续研究放氧动力学, 想测定放氧各步骤中间产物的中点电位, 此外, 他们还用叶绿体研究了与放氧有关的质子释放问题, 发现闪光下质子的释放也有四步的周期, 以第三闪产量为最高。因此他们推测放氧过程中, 在积累四个氧化当量后, 水是在最后一步中一起分解的, 但还不能十分肯定。由于放质子的周期必需在反应液中加入解联剂的情况下才能测得出, 他们推测放氧系统位于囊状体膜内侧 (BBA, 357: 299, 1974)。

马丁·玛丽埃塔实验室的舍纳 (Cheniae) 在继续研究放氧过程中锰的问题, 他们测得叶绿体中每400个叶绿素有6个锰, 认为它们处在不同的地位。



上图方框中的Mn可用 NH_2OH 去除, 缺锰的藻细胞加 Mn^{++} 的光活化即使 Mn^{++} 进入这个地位中去。他们尚在研究两个锰库的问题。布兰肯希普和索尔也在研究放氧过程中锰的问题, 他们用Tris洗涤后用顺磁共振方法研究锰的环境, 他们也得到支持锰有两个库的结论, 并且推测易被Tris洗下的锰是释放入囊状体膜内侧的 (BBA, 357:252, 1974)。耶鲁大学的陈光宇等用 Mg^{++} 盐去除叶绿体的锰得到新的结果, 使他们认为在新鲜叶绿体中所有的锰同样结合且均在放氧过程中起相等的作用, 但当三分之二的锰除去时可能产生一重新排列, 使剩下的锰难于去除并失去催化活力。叶绿体在冰冻状态长期贮藏后也产生上述重排现象 (Bioinorganic Chem. 3:339, 1974)。

伊利诺斯大学的戈文吉 (Govindjee) 等发现 HCO_3^- 对叶绿体的萤光瞬间变化及延迟发光有影响, 并且在弱光下也影响希尔反应活力, 因此认为它可能与光系统II电子供体的高氧化态的形成有关 (Plant and Cell Physiol. 15:533, 1974), 他们正继续研究这问题。

3. 电子传递

关于叶绿体光系统II和光系统I间的电子传递研究不多, 卡内基研究所植物生物学研究室的福克 (Fork) 和布鲁海文国家实验室的哈德等的研究结果均认为细胞色素f在电子传递链上。

加州大学的纳夫研究光合菌的电子传递, 认为大多数光合菌照光后产生的氧化物的中点电位均在 $+300$ — $+500\text{mV}$, 照光后产生还原物之中点电位均在 -100mV 。在其电子传递链中有b型及C型细胞色素参与。

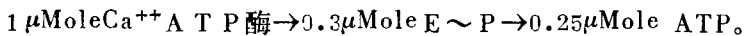
(二) 光 合 磷 酸 化

美国目前在光合磷酸化方面的研究大体可分三方面：（1）膜结构和磷酸化功能的联系。（2）偶联因子的特性。（3）生理功能。前两方面的进展是比较突出的。

1. 膜结构和磷酸化功能的联系

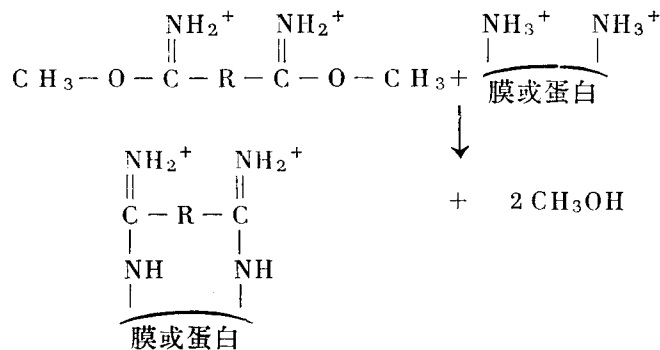
康乃尔大学的雷克(Racker)等对膜的分离重组做了很多工作,他们已成功地将只含细菌视紫(Bacteriorhodopsin)一个蛋白的嗜盐细菌(*Halobacterium halobium*)的紫色膜与牛心线粒体的腺三磷酶放在一起加磷脂后做成小泡体,它能在光下吸收 H^+ 和使ADP及 PO_4^{3-} 形成ATP。此反应对解联剂和能量传递抑制剂敏感,可说是组成了一个人为的光合磷酸化系统(JBC, 249:662, 1974)。

利用类似的办法,他们还重组了线粒体第一位置和第三位置的氧化磷酸化及肌质网的 Ca^{++} 泵,均有形成ATP的功能。因此雷克认为磷酸化问题已解决,就是说,离子梯度,可能与膜电位一起,使ATP酶发生构形变化,能与 PO_4^{3-} 结合并可转给ADP形成ATP。现在只是等待着有关专家们理解到这一点(Dynamics of Energytransducing membranes, eds. Ernster, Estabrook and Slater, 1974)。最近,按上述想法,他们实验室进一步做到了使 Ca^{++} ATP酶在加入大量 Ca^{++} 时可直接定量地形成ATP:



显然,这些工作对磷酸化机制的了解是很有好处的,但问题并不就此了结,还有很多方面仍不清楚。例如,上述各种重组实验中,加入磷脂的组成及数量对偶联程度的高低影响很大,其原因还不大了解,而在植物叶绿体中,磷脂很少,脂类物质约80%为半乳糖脂,有何独特作用尚不明白。他们实验室中的麦卡蒂(McCarty)等用半乳糖脂酶将叶绿体亚颗粒的半乳糖脂大部分去除,却发现对电子传递影响不大(Plant Physiol. 53:699, 1974),现仍在继续研究。

关于膜结构与磷酸化功能之间的联系,加州大学的派克(Packer)等在进行另一方面的研究。他们在用有自旋标记的碳氢化合物分子进入膜时的变化了解光暗等生理状态对膜结构的影响(ABB 160, 90, 1974),并且试图将光合膜稳定化。他们利用双功能交连剂等来增加叶绿体的稳定性,初步已做到使离体叶绿体在 $15^\circ C$, 12天后仍保持可形成 H^+ 梯度的功能,他们认为这对将来制造“生物太阳电池”也许有些作用(3rd Internat. Congr. on Photosynthesis, 1974)。他们应用的双功能交连剂为双功能亚氨脂,据说,比双功能醛类好,交连后可不大改变膜及蛋白的负荷:



2. 偶联因子的特性

叶绿体光合磷酸化的偶联因子和线粒体的氧化磷酸化的偶联因子的分子量均为 340,000 左右,各具有五个亚单位,并且都对低温不稳定,这是它们相似的地方,但它们在膜相连时,对需 ATP 的能量转换逆反应表现却不一样,在线粒体中很易显露出来,而叶绿体在进行光合磷酸化的标准条件下却不出现。在线粒体中曾发现有偶联因子抑制物调节此 ATP 酶活力。1972 年雷克等在叶绿体中也分离到类似的抑制物。其疏水性及对偶联因子的亲和性要比线粒体的强得多 (JBC, 247: 7657, 1972)。雷克在这次工作介绍中认为它与叶绿体的偶联因子结合很紧,使叶绿体的 ATP 酶活力更为隐藏,这是与植物光合作用生理过程中不需要 ATP 的逆转反应有关。他认为,在线粒体中可能很需要灵敏地调节此逆转反应来推动 $\text{NADH} + \text{NADP} \rightleftharpoons \text{NADPH} + \text{NAD}$ 反应,产生 NADPH 供各种生理过程之用。

康乃尔大学的贾根多夫 (Jagendorf) 等在从事研究偶联因子促进 ATP 形成的分子机制,他们发现叶绿体处于能化状态下偶联因子构形发生变化,使其中原来隐藏的一些基团能与溶剂水产生 H^+ 交换 (JBC, 247: 4453, 1972)。接着又利用光合磷酸化的作用底物 PO_4^{3-} 的类似物 SO_4^{2-} 和 MnO_4^- 来进行探讨,他们证明叶绿体处于能化状态时偶联因子发生构形变化,使它的一个部位在 ADP 及 Mg^{++} 存在下可被 SO_4^{2-} 或 MnO_4^- 所作用,造成光合磷酸化及 ATP 酶活力下降一半左右。从所需 ADP 的浓度不同来推测,上述反应中 ADP 的结合部位与 ADP 在光合磷酸化的部位是不一样的 (JBC, 249: 4404, 1974)。纽约市立大学亨特学院的凡勃特斯 (Vambutas) 等从腺甙酸对叶绿体延迟发光的影响也推测到腺甙酸与膜上的偶联因子有两个结合部位 (BBA, 印刷中)。麦卡蒂等用 N-乙基顺丁烯酰亚胺 (N-ethylmaleimide) 做实验,观察到叶绿体只有在能化状态时它才产生抑制作用,并证明其原因也是与偶联因子要在此变构条件下,其中的一些基团才可被 N-乙基顺丁烯酰亚胺所作用 (JBC, 247, 3048, 1972),他们现在对此反应还在进行研究。

加州大学的哈蒂 (Hartig) 及索尔则在研究将偶联因子带上以共价键连接的荧光标记后再加回叶绿体,做到了仍能恢复大部分光合磷酸化活力,他们正在试制一个与电子计算机相连的单光子荧光寿命计数器预备专门用来了解此偶联因子在膜上变成能化状态时的情况。

3. 生理功能

加州大学的阿农等仍在研究循环光合磷酸化在光合作用中的地位问题,他们认为在植物中生理上的辅助因子是铁氧还素。最近更发现铁氧还素在微克分子浓度时促进的循环光合磷酸化在远红光下的量子需要量为 2,较加入其它人为辅助因子的效率要高。

凯特林研究室的基斯特 (Keister) 在研究光合菌中光合磷酸化与电子传递的关系,他认为光合菌 NAD 的还原不伴随 ATP 的产生,而是由光合磷酸化产生 ATP 来供应琥珀酸 $\rightarrow$ NAD 间电子逆转传递所需之能量。

凯特林研究室的迈恩 (Myane) 及弗莱施曼 (Fleischman) 发现植物的叶绿体及光合菌的载色体在高能态时可影响其延迟发光强度 (Current Topics in Bioenergetics, vol V, 1973)。伯奇观察到在叶绿体中 H^+ 浓度梯度是影响延迟发光的主要因素,而在叶绿体亚颗粒中则膜电位是影响延迟发光的主要因素 (BBA 347, 371, 1974)。麦卡蒂等 (JBC, 249: 6256, 1974) 及马里兰大学的施瓦茨 (Schwartz) 均在研究光合磷酸化中 ATP 形成与 H^+ 浓度梯度的关系。他们都认为两者是有定量关系的。

布鲁海文国家实验室的哈德则利用各种离子电极研究叶绿体在光下吸收 H^+ 时其它离子的相应流动情况。他发现叶绿体照光时，囊状体吸收 H^+ 同时伴随着 Cl^- 的内流和 Mg^{++} 的外流。黑暗时则逆转。他认为，在完整叶绿体中光暗变化时囊状体和间质间 Mg^{++} 的流动可能对调节间质中羧基歧化酶的活力具有重要生理意义，因为羧基歧化酶是光合碳循环中同化二氧化碳的关键酶，已知它在高 Mg^{++} 浓度时活力增加，低 Mg^{++} 浓度时活力下降。这样，在光下 Mg^{++} 流动到间质中可增加它同化二氧化碳的能力，在暗中 Mg^{++} 自间质除去，可减少它的活动，有助于保持光合碳循环各中间产物的库存，以便再见光时能立即开始同化二氧化碳。哈德还在考虑应用上述 H^+ 和其它离子的对应流动的原理，模拟光合膜做一个离子泵，探索试制利用光能淡化海水的装置。

(三) 叶绿体的结构与功能

叶绿体结构与功能的研究是目前美国光合作用研究中非常活跃的领域。就我们这次参观考察的单位来看，在不同水平上（细胞水平、膜结构及分子水平）都开展了不少研究工作。主要以两方面的研究最为活跃：一是光合电子传递体、偶联因子以及色素蛋白复合体在膜上的标记定位及其结构与功能的研究；二是膜结构的拆合，包括作用中心色素蛋白复合体及捕获光能色素蛋白复合体的分离、提纯、鉴定以及结构与功能的关系。总的情况分四方面介绍（与光合磷酸化有关的膜结构与功能，在光合磷酸化部分已作了介绍，此处略）：

- (1) 叶绿体膜结构、膜功能及膜的化学成份；
- (2) 光合电子传递体、偶联因子、色素蛋白复合体在膜上的标记定位及其与功能的关系；
- (3) 光合器作用中心的结构与功能的研究；
- (4) C_4 植物叶绿体的结构与功能。

1. 叶绿体膜结构、膜功能及膜的化学成份

加州大学植物系的帕克近年来把膜的结构、膜的功能与膜的化学组成三者的研究结合起来，目的是为了最终阐明膜的功能。最近帕克等 (Membrane Proteins in transport and phosphorylation, 1974) 建立了一个很简单的方法，能取得膜的小泡的外半部进行分析。将膜小泡吸附在烧杯底部，再将烧杯浸在10%的甘油中并冰冻。取出烧杯后，在烧杯底部和冰上都留下了膜小泡的残留物，如图2。烧杯带下来的部份，是膜小泡的外半部，相当于帕克等提出的膜结构模型的C面。凝胶电泳的结果表明，膜小泡的外半部，富于偶联因子范围的峰值及30KD峰值。这是和用EDTA提取所观察到的偶联因子及30KD成份位于膜表面的结果相一致的。帕克等认为，这个方法与冰冻蚀刻技术相比，是非常简便的，而且能避免去垢分离的许多缺点。帕克等还相信，利用这个方法能改进他们曾提出的膜结构的模型，并加深对膜功能的了解。此外，帕克等近年，利用SDS聚丙烯酰胺电泳广泛的分离和分析囊状体膜的蛋白成份，发现在叶绿体中有40多种蛋白质。

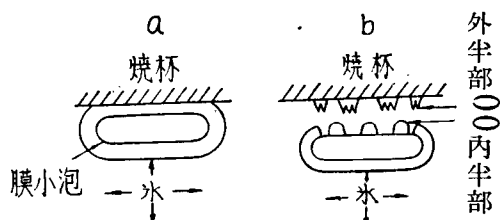


图2 取得膜的小泡外半部样品图解
a. 冰冻膜小泡破裂前；b. 冰冻膜小泡破裂之后。

此外,耶鲁的厄尔斯特-方伯格(Ernst-Fonberg)正研究叶绿体膜的脂肪组份及其合成途径。康涅狄格农业实验站的波因斯劳特(Poincelot)进行叶绿体完整外膜的分离,并研究此膜上离子运转特性。伊利诺斯大学园艺系的里贝兹(Rebeiz)等在研究叶绿体的生物合成的同时,从膜上的蛋白质和脂肪的生物合成入手研究叶绿体膜的合成。

2. 光合电子传递体、偶联因子、色素蛋白复合体在膜上的标记定位及其与功能的关系

伊利诺斯大学植物系的阿恩程(Arntzen)(Chloroplast Structure and Function, in Bioenergetics of chloroplasts, 在印刷中)在1969年、1972年用毛地黄皂苷分离膜碎片的基础上,提出光系统I及光系统II在膜上是不对称分布的。光系统I是位于两层膜的较外部,而光系统II是位于两层膜的较内部。1974年阿恩程等(BBA 347: 329, 1974)从生物化学中引进了一个新的方法,可以分析暴露于膜表面的成份,推测叶绿体膜蛋白的定向分布。这个方法是菲利普斯(Phillips)等研究红血球膜所采用的。它是利用乳过氧化氢酶,在过氧化氢存在下,催化膜蛋白的酪氨酸和组氨酸基团的碘化。这个酶促碘化的特点是仅仅对膜最外部的成份有高度的专一性。在叶绿体酶促碘化之后,测定了 ^{125}I 的分布及光化学活力。发现用EDTA洗涤除去的蛋白质部份,具有很高的 ^{125}I 的标记,说明光合磷酸化的偶联因子是完全暴露在膜的表面,碘化反应对光合磷酸化活力是选择性的、高速的抑制。碘化反应的结果丧失了光系统I的活力, NADP^+ 光还原的速度比起甲基紫精光还原速度受到更强烈的抑制,表明碘化强烈地作用于光系统I还原侧的电子传递体。阿恩程等(BBA 368, 39, 1974)又进一步研究了碘化反应对光系统II的影响。发现这个处理对光系统II具有两个作用。其一是在低度碘化下,部份地失去了DCIP光还原活力,甚至在光系统II电子供体存在的条件下仍如此。可变萤光产值降低,而且在嫌气条件下加连二亚硫酸钠也不能恢复。无论是在戊二醛固定的膜或未固定的膜中都观察到相同类型的抑制。萤光寿命的分析表明,碘化改变了激发态叶绿素失活的速度。因此推测,碘化使碘进入了光系统II作用中心色素蛋白复合体,产生了一个新的猝灭,这表明光系统II作用中心是暴露在膜的表面上。其二是在高度碘化下,抑制了光系统II氧化侧的电子传递反应。在加光系统II电子供体的情况下,一部分受到抑制的反应能恢复。碘化对戊二醛已固定的膜光系统II氧化侧电子传递不发生作用。因此,推测光系统II氧化侧的电子传递体不位于膜的表面。但碘化对其功能的损害是由于高度碘化下,引起了膜结构解体的结果。

雷克等(Proc. Int. Congr. Photosynthesis Res, 2nd 1972)观察到无论是细胞色素f或PC的抗体都没有引起叶绿体质兰素的凝聚和光反应的抑制,推测细胞色素f和PC不位于囊状体膜的表面。索尔等利用光谱技术研究光合单位的内部结构,提出了“石子镶嵌”的模型。所谓石子即指作用中心复合物,电子传递体以及天线色素蛋白复合体等。并认为氧释放的一些成份的位置是近于膜的内侧,而光系统II作用中心复合物的位置是近于膜外侧。与铁氧还素偶联的一些成份位于膜的外侧。里德(Reed)等利用抗体和电子显微镜技术相结合研究光合细菌载色体的膜结构,观察到ATP酶(直径为9 nm)位于膜的最外层,作用中心复合体(直径=12 nm)位于膜内,而捕获光能的色素蛋白复合体(直径=5 nm)又位于作用中心复合物之内。

从以上的研究都说明,不仅两个光系统在膜上的分布是不对称的,而且每个光系统的作用中心或电子传递体的分布亦是不对称的。

3. 光合器反应中心的结构与功能

光合作用所进行的光能转换原初反应是在作用中心进行的。作用中心的结构与功能，是光合作用研究中极为重要的问题。近年来美国在这方面，从光合细菌到绿色植物都开展了一定的研究，取得一定的进展。

(1) 光合细菌作用中心的结构与功能

光合细菌作用中心的研究远远早于高等植物作用中心的研究。康乃尔大学的克莱顿(Clayton)早在1968年就和里德一起，从光合菌(*Rhodospseudomonas spheroides*)中分离出作用中心复合物，其后又进一步用十二烷基二甲基氧化物(LDAO)纯化。通过SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，表明这个作用中心是由分子量为28,000, 22,000及22,000三个成份所组成，其克分子的比例为1:1:1 (Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 1973)。凯特林研究室的里德等(JBC 248, 3041-45 1973)利用圆二色光谱研究了光合细菌(*Rhodospseudomonas spheroides*)的作用中心的吸收光谱带，表明在77°K下，在893, 804及760nm的吸收带，每一个又分裂为二个圆二色相峰，这是和每一个单一的色素蛋白复合体中含有4个细菌叶绿素分子及二个细菌脱镁叶绿素分子相一致的。

布鲁海文国家实验室的奥尔森(Olson)等，早在1962年利用去垢剂第一个从绿色光合细菌中分离出一个水溶性的细菌叶绿素蛋白复合物。1971年推论这个复合物是由每个含有5个细菌叶绿素分子的四个相同的亚单位组成。1974年奥尔森等(J. Mol. Biol. 84, 231, 1974)利用X射线衍射对从*Chlorobium limicola*绿色光合细菌中分离出来的细菌叶绿素蛋白质晶体从新进行了研究。修正了奥尔森早期研究工作中的错误，导致的结论是从绿色光合细菌中分离出来的细菌叶绿素蛋白复合物是由三个相同的亚基组成的三聚体，分子量 $(1.53 \pm 0.23) \times 10^5$ 。每个亚基中有7个细菌叶绿素分子。

关于光合细菌作用中心原初电子受体到底是什么现在还未肯定下来。一般认为在光合细菌中可能有二个原初电子受体。一个是用顺磁共振波谱仪观察到的信号，认为是铁硫蛋白，一个是利用光诱导的吸收变化与顺磁共振波谱技术相结合，观察到原初电子受体是泛醌(Ubiquinone简称UQ) (Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 2, 131—156 1973)。克莱顿认为在载色体或作用中心中，观察到顺磁共振信号与泛醌(UQ)不矛盾，但直到目前为止，根据实验结果他还不能完全肯定泛醌是原初电子受体。葛培根等(BBA 292: 226, 1973)则支持泛醌作为次极电子受体的观点。

根据光合细菌作用中心研究的过程来看，无论是紫色非硫细菌或绿色光合细菌，都是从生化入手，首先是分离作用中心。在分离、纯化作用中心的基础上，与物理部门或生物物理部门协作，开展反应中心分子结构与原初反应的研究。但到目前为止，虽然光合细菌的作用中心已进入较深入的研究，但它的原初电子受体还未肯定，这与高等植物的研究恰恰相反。

(2) 高等植物光合器作用中心的构与功能。

布里格姆·扬大学的弗农(Vernon)等在过去Triton X-100处理叶绿体分离两个光系统的基础上，近一、二年来利用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离叶绿体膜蛋白，并测定其分子量。他们发现(PCPB 19:1, 1973)叶绿体碎片的蛋白组成与这些片的功能性质是紧密相关的。从光系统I及光系统II碎片获得了非常不同类型的蛋白质。结构蛋白是光系统II碎片最主要的蛋白质。而从基粒和间质片层获得的光系统I碎片比起光系统II来，含有分离得比较清楚

的单一的蛋白质。弗农等1974年在过去工作的基础上,结合蔗糖梯度离心及SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳等技术,已分离出三种色素蛋白复合体,即光系统I的色素蛋白复合体,光系统II的色素蛋白复合体以及捕获光能的色素蛋白复合体,分子量分别为70,000, 46,000及22,000至24,000。弗农还认为,在囊状体中,光系统I的色素蛋白复合体是位于膜的外侧,光系统II的色素蛋白复合体是位于膜的内侧,而捕获光能的色素蛋白复合体位于二者之间,至于在间质片层中是否有捕获光能的色素蛋白复合体,现在还不能肯定。这取决于分离的方法及有待进一步的研究。阿恩程等目前正在研究黄化幼苗转绿过程中,叶绿体结构与功能的关系。黄化幼苗在经过间歇照光之后又连续照光,与一直处在间歇照光之下,二者的结构与功能非常不同。他们发现,前者的叶绿体具有基粒片层,具有捕获光能的色素蛋白复合体,而后者则无基粒,缺乏捕获光能的色素蛋白复合体。二者的光合功能相差也很明显。并发现二价阳离子对捕获光能色素蛋白复合体有控制作用。若它与 Ca^{++} 结合,捕获的光能转移到光系统II较多,否则相反。阿恩程打算进一步研究 Mg^{++} 对捕获光能色素蛋白复合体的调节,以便控制光能在两个系统中的分配。并且还准备应用冰冻蚀刻的电子显微镜技术研究黄化幼苗转绿过程中膜结构一步一步装配的情况。此外,俄亥俄州立大学生化系的格罗斯(Gross)在分离、提纯捕获光能色素蛋白复合体的同时,研究一价及二价阳离子对叶绿体基粒中激发能的分配以及质子梯度形成的影响。

葛培根等(BBA 347: 36, 1974)用Triton处理从菠菜叶绿体中分离出光系统II作用中心复合物,并描述了其特征。它不含有P700及铁硫蛋白。但富于细胞色素b559, P680及C550。这与凡塞尔斯(Wessels)等(BBA 292:741, 1973)用毛地黄皂苷处理从菠菜叶绿体中获得的光系统II作用中心颗粒是类似的。

4. C_4 植物叶绿体的结构与功能

一般认为, C_4 植物的叶绿体具有两种形态结构,有的 C_4 植物维管束鞘细胞叶绿体几乎缺乏基粒,缺乏光系统II活力。叶肉细胞叶绿体具有与间质膜相联的正常的基粒堆,具有正常的光系统II的活力。二者均具有光系统I的活力。但目前对 C_4 植物维管束鞘细胞叶绿体是否真正缺乏光系统II活力存在着争论。基粒片层与光系统II活力之间到底是什么关系?

亨特学院的布罗迪(Brody)等观察到从蓖麻中提取出来的蛋白质对叶绿体结构有影响,使叶绿体膨胀,基粒片层松开,光系统II活力受到抑制。根据弗农介绍,博德曼(Boardman)认为间质片层中不一定没有光系统II,因为阳生植物的基粒片层很少。凯特林研究室的迈恩等(Photosynthesis and photorespiration, 1971)的结果表明,在禾本科植物 *Digifaria Sanguinalis* 的维管束鞘细胞叶绿体中具有一定的希尔反应活力,为叶肉细胞的1/3。1974年他们又进一步深入研究各种 C_4 植物中叶肉细胞及维管束鞘细胞光合作用的差别。阿恩程等(BBA 245: 409, 1971)研究了高粱的两种叶绿体结构,证明在维管束鞘细胞叶绿体中具有叶肉细胞15%的光系统II活力,具有10%的非循环光合磷酸化活力。阿恩程等推测(Bioenergetics of Chloroplasts, 在印刷中)在无基粒的维管束鞘细胞中叶绿体基粒堆积的程度与光系统II的水平之间没有直接的相互关系。那么基粒的生理意义是什么呢?他们广泛收集了结构与功能的资料力求论证这个问题。一部分资料强烈支持光系统II的活力是依赖于基粒的存在观点,而另一部分资料又有力地说明基粒结构与光系统II之间完全缺乏相互的关系。但是光系统II活力与基粒之间的直接和间接的关系到底是什么?基粒堆到底有什么生理意义,至今仍未有解决。

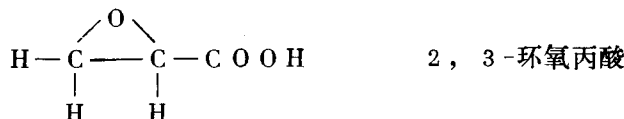
(四) 二氧化碳的同化、大田光合作用及测定方法

美国在CO₂的同化及大田光合作用方面的研究主要有三方面：（1）光呼吸，（2）碳素代谢的调节，（3）大田光合作用。现分别介绍如下：

1. 光呼吸

康涅狄克州农业实验站的蔡里奇（Zelitch）在12年前测定植物的净光合作用，结果差异很大，发现这是由于光呼吸的不同，烟草的光呼吸很高，玉米的很低，光呼吸比暗呼吸的强度大3—5倍。他们想控制作物的光呼吸，以提高净光合作用。前几年曾找到一些光呼吸抑制剂，可以抑制光呼吸，如 α -羟基吡啶甲基磺酸（ α -HPMS）抑制乙醇酸氧化酶，使乙醇酸不能氧化产生CO₂。

最近蔡里奇发现一种新的光呼吸抑制剂——2, 3-环氧丙酸（2, 3-epoxypropionic acid或glycidic acid）能够抑制乙醇酸的生物合成。



用20毫克分子浓度的2, 3-环氧丙酸可以抑制烟草中乙醇酸的生成达40—50%，同时它的净光合作用增加40—50%。在C₄植物如玉米中，2, 3-环氧丙酸也能抑制乙醇酸的生成，但其光合作用不增高。（BBA 163: 367, 1974）他认为2, 3-环氧丙酸可能与乙醇酸合成酶系的活性中心相结合而产生抑制作用，它是一种专一性抑制剂。

蔡里奇研究光呼吸抑制剂虽强调有提高作物产量的作用，但目前他们仍停留在实验室及温室的研究阶段，尚未在大田作物中应用。

在遗传学方面，他们也进行了一些研究，在烟草品种哈瓦那种子（Havana Seed）中找到一株光呼吸低的植株，其光/暗比为1.6，而正常植株的光/暗比大于2.5，以后用光呼吸低的植株自交，进行选择，在第三代得到了一个光呼吸很低的烟草品种，其净光合作用比正常品种高40%。

该站的帕拉科（Paracco）及柏林（Berlyn）用生化及遗传学方法选育低光呼吸的新品种。他们在烟草的单倍体组织培养中加进乙醇酸途径的抑制剂，如 α -HPMS及蛋白质合成抑制剂，如抗霉素、环己亚胺等，大部分组织死亡，试图从少量具有光自养能力存活下来的组织中选出光呼吸低的新品种。

美国地区大豆实验室的奥格伦（Ogren）正在选育光呼吸低的大豆品种。由于光呼吸高的植物其CO₂补偿点高（约为50ppm），而光呼吸低的植物补偿点很低，他们将大豆幼苗与玉米幼苗共同放在光呼吸室（Photorespiration chamber）中，培养一星期，其中的CO₂由于光合作用而消耗，当CO₂浓度下降至大豆的CO₂补偿点以下，即不能再被其利用，大豆幼苗因饥饿而逐渐死亡，玉米因CO₂补偿点低仍能进行光呼吸而存活。这时如有存活下来的大豆幼苗，其光呼吸必然较低，即可选择出来。他们计划筛选50万株大豆，两年多已筛选过20多万株，尚未选出光呼吸低的植株，目前仍在继续进行筛选中。

奥格伦等用的光呼吸室为7呎×15呎钢框的底槽，槽中铺砂，可种400株玉米及1500株大豆幼苗，试验时用密封的塑料罩遮盖起来，日光灯照射的光强度为3000呎烛光。大豆种子预先用 γ -射线、热中子或其它化学诱变剂处理，以产生突变，幼苗先在正常大气中培养10天再进行试验。

奥格伦最近提出植物光呼吸的途径如下图：

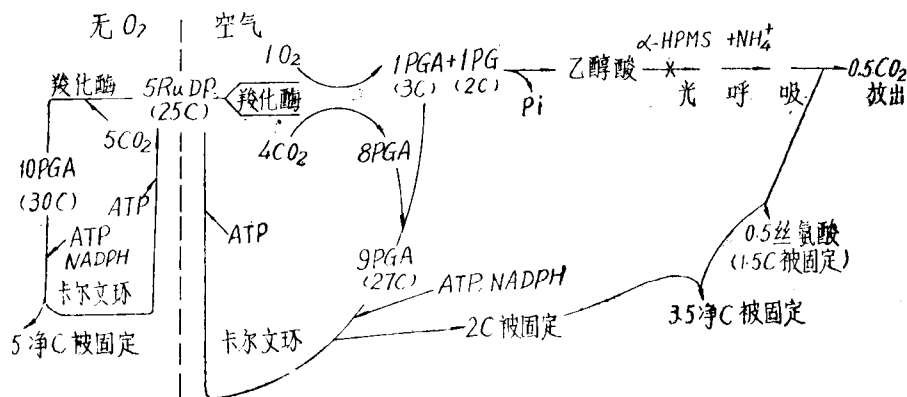


图3 关于乙醇酸途径，(奥格伦)

卡内基研究所的比约克曼 (Björkman) 及贝里 (Berry) 将藜科牧草滨藜 *Atriplex rosea* (一种 C₄ 植物) 与同属的 *Atriplex patula* (一种 C₃ 植物) 进行杂交，希望通过杂交将 C₃ 植物变成 C₄ 植物。杂种第一代具有 C₃ 植物和 C₄ 植物之间的性状，第二代即发生性状分离，有些接近 C₃ 植物的性状，有些接近 C₄ 植物的性状，但无完整 C₄ 植物的性状，故光合能力反而下降。因此，他们认为靠植物杂交获得 C₄ 植物是很困难的。(Scientific American 1973 年10月号80—93) 现在他们准备研究植物中控制 C₄ 途径关键酶的脱氧核糖核酸 (DNA) 的问题。

2. 光合作用碳代谢的调节控制

加州大学的巴沙姆 (Bassham) 等根据他们关于还原戊糖环 (即卡尔文环或光合碳循环) 的研究，现正从事碳代谢调节控制的研究。在绿色植物中碳水化合物的合成是从 6-磷酸果糖开始的，而合成脂肪、蛋白质等则要从 3-磷酸甘油酸 (PGA)、3-磷酸甘油醛、磷酸二羟丙酮 (DHAP) 开始。对光合作用碳代谢加以调节可以改变光合产物的合成方向。

在研究碳代谢调节时，他们先使光合组织吸收 $^{14}\text{CO}_2$ ，经过 3—10 分钟光合作用，使其中间代谢产物全部被标记上，达到恒态标记，然后再改变环境，分析其前后代谢物的变化。他们发现当加入一毫克分子的铵盐时，磷酸烯醇式丙酮酸 (PEPA) 的水平立即下降，而丙酮酸的水平立即上升，这表明铵离子促进 PEPA 及 ADP 转化成丙酮酸及 ATP，与此同时，脂肪及蛋白质的生物合成大大增加，而碳水化合物的合成减弱。因此加进铵盐改变了光合碳循环的合成方向。他们正注意研究高等植物中的调节机理及其对产物的影响。目前，农业化学家从苜蓿等绿色牧草叶片中提取叶蛋白进行工业生产。在苜蓿叶片中蛋白质的生产效率非常之高。研究调节这些叶子中蛋白质含量的机制非常重要，他们现在正以苜蓿叶片 (以及破碎的及重组的叶绿体) 为材料进行碳代谢调节的探讨。

3. 大田的光合作用及其测定方法

美国关于大田的光合作用研究,很多在大学农学院进行,我们考察过以下三个单位。

康乃尔大学的莱蒙 (Lemon) 从空气动力学研究玉米田间 CO_2 交换的情况,得出以下结果:

$$\text{光合作用 } \text{CO}_2 \text{ 流量 } P = K^2 \frac{(\Delta u)(\Delta \text{CO}_2)}{(\ln \Delta z)^2},$$

式中 K 为常数, $=0.4$, u 为风速, z 为高度。莱蒙还研究了植物群体中能量的平衡。他并研究了植物几何形态,即植物各器官的立体分布,他认为植物叶片角度的大小并不重要。

康乃尔大学的马斯格雷夫 (Musgrave) 测量玉米群体的光合作用,用红外线气体分析器分析 CO_2 的吸收量。他曾测定许多玉米单交种叶片的光合强度及其群体的光合强度,并研究与产量的关系。他得到的结论认为玉米的光合作用强度与其籽粒产量之间并无相关性。

但该大学园艺系的华莱士 (Wallace) 以光合作用及呼吸作用的速度作为蔬菜育种的指标,他们的研究结果证明,光合作用与生物学产量具有一定的相关性。研究生皮特 (Peet) 测定四季豆植株的羧基歧化酶及苹果酸脱氢酶,发现这些酶的活性也与产量成正相关。

伊利诺斯大学的彼得斯 (Peters) 等人研究大豆田间的合作用。他们设计制造了一套仪器可以测定田间作物群体的光合作用、呼吸作用和蒸发作用,据他们测定,大豆的光合作用速率与产量成正相关,因此,他们将光合作用速率作为选育的一种指标。

耶鲁大学森林系的莱第希 (Ledig) 利用光合能力研究速生树种的选育。他们以光合作用 CO_2 的吸收量作为衡量树木生长的指标,先直接测定短时间内 CO_2 的吸收量,然后计算长时间的净同化率。他将光合速率、呼吸速率及光合产物分配到根、茎、叶的参数结合起来,设计了一个树木生长的模型;

$$Y(t) = K [P(t) \cdot L(t) \cdot H_L - R_s(t) \cdot S(t) \cdot H_D - R_r(t) \cdot U(t) \cdot 24] dt$$

($Y(t)$ 代表总干重, $P(t) = \text{CO}_2$ 净吸收量, $R_s(t)$, $R_r(t)$ = 茎及根的呼吸量, $H_L(t)$, $H_D(t)$ = 光照及黑暗的时数, $L(t)$, $S(t)$, $U(t)$ = 叶、茎、根的干重, K = 常数,约为 0.5) 他们用电子计算机计算其结果,并与实际生长量相比较,结果极为相近。这些生理参数可以用来预测树木苗期生长的差异,从而可以早期选育树种,因而可缩短育种的周期。(Yale University School of Forestry and Environment Studies Bulletin №85, 1975)

关于大田光合作用的测定目前普遍使用红外线气体分析器测定 CO_2 的吸收,各实验室自己设计制造各种叶室,并具有通气、冷却设备,这种仪器的限制是需要田间有电力供应。康涅狄克州农业实验站的因寇尔 (Incoll) 及瑞特 (Wright) 设计了一种测定光合作用强度的简易方法,用 $^{14}\text{CO}_2$ 饲喂植物叶片的一小部分,进行光合作用,然后从叶片的放射强度可计算 CO_2 的吸收。这个方法快速灵敏,将仪器携带到田间测定,也比较方便。有些单位也已采用这个方法。(Soils XXX/100, 1969, Special Bulletin)

彼得斯等设计的光合作用测量室可沿轨道移动,两条轨道可放在作物行的两边,测量时将测量室每边的塑料门窗放下,构成一个密闭系统(测量室大小为 2.03 米长,1.52 米宽,1.3 米高),其中 CO_2 浓度的变化及水蒸汽含量的变化可分别用红外线气体分析器及干湿球热敏电阻湿度计进行测量。据他们测定 4 分钟内 CO_2 浓度改变 1ppm,相当于光合作用(或呼吸作用)吸收(或放出) 0.0371 克 CO_2 /米²/小时。他们利用这套仪器测定田间作物的光合作用或呼吸作用,结果相当准确,并且不改变田间的自然条件。(Agronomy J. 66:460,

1974)

耶鲁大学森林系及卡内基研究所为了进行野外光合作用的测定,都制造了一个流动实验室,将测定光合作用的红外线气体分析器等测试仪器以及小型电子计算机安装在一辆汽车内,可开到野外进行光合作用等生理数据的测量,测定光合作用的叶室可用一长管与汽车内的红外线分析器连接起来。

(五) 能源问题——太阳能的生物转换利用的研究

美国由于能源危机十分严重,正研究办法开辟新能源,其重要途径之一就是太阳能的生物转化。在美国政府的国家科学基金会(NSF)的“研究应用于国家需要”计划的支持下,组织有关学科研究太阳能的生物转化。但是由于美国的垄断资本主义制度,其能源危机是难以解决的。

太阳能的生物转化主要有两方面:(1)太阳能转化为电能,即太阳能电池的研究;(2)利用光合作用将太阳能转化,产生氢气或甲烷等作为燃料。关于第一方面的研究,我们在考察中接触到一些。加利福尼亚大学的卡尔文(Calvin)在进行模拟光合功能试制光能转化器的研究。该校的派克研究光合膜的稳定化,试图在制造生物太阳电池上发挥作用。哈德(Hind)考虑模拟光合膜,以便利用日光能淡化海水,这些已在前面介绍。此外,我们遇到密执安大学的田心棣(H.T.Tien),他用人工双脂膜加叶绿素照光产生电流,加入电子供体和受体后,目前已达到300毫伏以上。他并谈到1974年11月在美国的一所国家实验室召开过一次光能转换的会议。关于第二方面的研究,利用藻类固定日光能产生甲烷正在进行较大规模的试验。但最近讨论得较多的是利用光合功能产生氢气的问题。

三十年前即已发现绿藻在无氧条件下照光,可以放出氢气,但一直只有极少数人从事光合放氢的研究。美国国家基金会为了探讨利用光合作用放氢作为新能源的可能性,1972年在田纳西州的加特林堡(Gatlinburg),1973年在马里兰州的贝塞思达(Bethesda)连续召开过两次太阳能生物转化工作会议(Workshop on Bio-Solar Conversion),可见他们对这项研究的重视。

地球表面接受大量太阳能,据计算平均每天每平方米接受4瓩时的能量。从理论上计算,绿色植物转化太阳能的效率可以达到10%,如通过藻类光合作用生产氢气,每天每平方米可达9克分子 H_2 (即18克)。他们按照目前美国的石油消耗量推算,2000年时每天需消耗100万吨液态氢,如利用太阳能取得氢气,5万平方公里地面接受的太阳能通过光合放氢工程即可满足全部燃料需要。虽然5万平方公里是一个相当大的面积,但尚不到美国西南部沙漠地区面积的10%。

近年来的研究证明,许多种藻类(*Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Scenedesmus*)在无氧环境中适应一段时期产生氢化酶后,在一定条件下都有光合放氢作用,但是放氢的速率很低,约为5—10微克分子 H_2 /毫克叶绿素/小时,只有光合放氧的3—6%。

通过美国有关科学家(包括光合作用、酶学、微生物等专业)的讨论,大多数人认为利用光合作用系统转化太阳能的可能性是没有争论的。太阳光是一个极其丰富的能源并可生产廉价而清洁(无污染)的燃料。他们认为可以期望由于科学的进展将来会实现这个目标。不过目前由于对光合作用所掌握的资料很不充足,使叶绿体的结构和功能稳定化的办法尚处于摸索的阶段,因此,利用光合系统达到工程化进行生产氢气,为期尚远。但另一方面他们认