

严国光 周佩珍 编著  
郭 础 戴云玲

# 光合作用原初过程

科学出版社

# 光合作用原初过程

严国光 周佩珍

编著

郭 础 戴云玲

科 学 出 版 社

1 9 8 7

## 内 容 简 介

本书是一本植物生理学方面的基础知识书籍，讲述了植物光合作用原初过程的光能吸收与传递、反应中心、电子传递、光合色素、光合膜以及研究光合作用原初过程的时间分辨光谱技术等问题，并对这些问题作了一些评论。

本书可供生物学、化学、物理学、农业科学工作者及有关专业的大专院校师生参考。

## 光合作用原初过程

严国光 周佩珍 编著

郭 础 戴云玲

责任编辑 梁淑文

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院开封印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1987年9月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1987年9月第一次印刷 印张：7 1/8

印数：0001-2,700 字数：159,000

统一书号：13031·3649

本社书号：5055.13-6

定价：1.70 元

## 前 言

光合作用是一个特殊的和基本的生命过程，而原初过程是将光能转变为化学能的起始过程，所以是光合作用过程的一个极为重要的生命现象。如果以时间来表示，将光合作用分割为几个分过程，则量子的吸收和转化的时间在 $10^{-15}$ — $10^{-8}$ s范围内，电子载体的氧化还原的过程在 $10^{-10}$ — $10^{-4}$ s中进行，氧释放在 $10^{-8}$ — $10^{-1}$ s时间内，所以，原初过程是在 $10^{-15}$ — $10^{-1}$ s时间内进行的。原初过程是吸收光能后一系列起始的和快速的反应，它是在光合膜上进行的，其中不仅有光物理和光化学的过程，而且是与生命现象紧密相关的。原初过程的研究不仅有理论意义，而且有应用的价值。在工业上如太阳能电池、光合放氢和固氮等；在农业上如作物产量、植物抗性（抗寒、抗盐和抗旱）等都与其有关；其他如与燃料和环境保护等也都有关。

原初过程所涉及的知识面较广，不单与物理学和化学有关，而且生物化学和生物学的知识亦是不可缺少的。为了加强学科间的交流和渗透，我们认为有必要写一本这方面的基本知识的书籍。但我们四个人所学专业不同，认识上亦各有差异，在内容和文字上都可能存在错误和不妥之处，请读者阅后给我们提出宝贵意见。

本书一共有七章：第一章概述。第二章为时间分辨光谱技术，它是研究原初过程的一个重要方法。第三章光合色素。第四章光能的吸收与传递是着重从物理学角度加以讨论的，这可能有助于生物学家们对原初过程的认识。第五章反应中心。第六章叶绿体的电子传递及水裂解放氧。第七章光合

膜，是从生物化学和生物学方面进行阐述的，这有助于化学家和物理学家们对原初过程的认识。

作者的名次是按姓氏笔划为顺序排列的。本书承北京大学梅镇安教授审阅并提出宝贵意见，特此致谢。

严国光（北京农业大学）

周佩珍（中国科学院植物研究所）

1983年6月

# 目 录

|                         |         |
|-------------------------|---------|
| 前言.....                 | ( iii ) |
| 第一章 概述.....             | ( 1 )   |
| 第二章 时间分辨光谱技术.....       | ( 5 )   |
| 第三章 光合色素.....           | ( 42 )  |
| 第四章 光能的吸收与传递.....       | ( 62 )  |
| 第五章 反应中心.....           | ( 103 ) |
| 第六章 叶绿体的电子传递及水裂解放氧..... | ( 140 ) |
| 第七章 光合膜.....            | ( 179 ) |

# 第一章 概述

严国光 周佩珍 戴云玲

现代人类所应用的化石燃料（煤与石油等）是地球历史年代中所累积的光合作用产物。在科学技术高度发达、人口大量增长的今天，这些燃料以惊人的速度在消耗着。此外，人类的食物是由形式多样的有机化合物组成的，而这些有机化合物是直接地或间接地来自光合作用过程。

高等植物的光合作用是以水和 $\text{CO}_2$ 作为原料，以大约8—10个光量子作为能源合成 $1/6$  ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) 同时放出氧气的。其他一些进行光合作用的生物，如光合细菌则利用其他的含氢化合物如 $\text{H}_2\text{S}$ 等替代水进行这个过程。近二、三十年来人类对光合作用过程的认识有了很大程度的提高，但要达到人类研究光合作用的最终目的还是非常不够的，所以现在普遍地认为还应大力加强对光合作用机理的研究。这对今后作物产量的提高、新类型作物的产生以及生物量和能源的开发等是完全必要的。

本世纪初Blackman的实验结果提示在光合作用总过程中存在有与温度有关、 $\text{CO}_2$ 为限制因素的暗反应，和与温度无关、光为限制因素的光反应。以后Emerson和Arnold (1932) 进一步用闪光 ( $3 \times 10^{-8}$ 秒) (以不同暗期为间隔) 证明在光合作用过程中有“光反应”和“暗反应”两个阶段。根据现有的知识，光合作用可以分为以下几个分过程：

1. 原初反应 (包括光能吸收、传递和电荷分离)。
2. 电子传递和氧的释放。

### 3. 光合磷酸化.

### 4. 二氧化碳同化.

前面三个过程是在光合膜上进行的, 碳素同化则是在叶绿体的间质中进行的, 后者是以前者所产生的 ATP 和  $\text{NADPH}_2$  为动力的.

二氧化碳固定和还原不需要光, 被称为暗反应, 它与其他生命现象中的碳代谢过程十分类似. 原初反应、电子传递和氧释放以及光合磷酸化等反应都是在膜上进行的, 后面这些反应与原初反应联系紧密, 常称为原初过程.

在原初反应中光合色素特别是叶绿素 (在细菌中是细菌叶绿素) 起重要作用. 即使在强光下, 每一个叶绿素分子每分钟只能吸收大约十个量子, 而相继的电子激发能传递反应速度是相当高的; 所以, 在所有光合作用的有机体内只有少量的叶绿素具有特殊的结构并能进行光化学反应, 叫做反应中心叶绿素. 其他大量的叶绿素叫做天线色素或捕光色素, 它们具有吸收和传递激发能的功能. 这种快速的激发能传递有利于少数的反应中心叶绿素. 在高等植物和绿藻中天线色素和反应中心的比例约为 200—300 : 1. 而在紫色光合细菌中约为 40—200 : 1. 虽然对光合单位概念的提法不一致, 但现在一般是指反应中心叶绿素和与它在一起的天线色素. 激发能传递机理在原初反应的研究中是较弱的环节.

反应中心叶绿素本身可以直接吸收光能, 但大多数情况下它是利用天线色素传递来的激发能进行电荷分离. 电荷分离所产生的氧化剂和还原剂进行一系列的电子传递反应, 相继的是一系列酶参与的反应并产生生物所必需的化合物. 实际上电荷分离后, 原初反应即已完成了.

吸收光能进行电荷分离并不是光合作用所特有的, 在非生命的光化学反应系统中亦存在. 但在一般光化学反应中,

在电荷分离的同时伴随着原初产物与光敏化剂之间的电子传递的逆转。这几乎使所有的能量以热能形式被释放。怎样才能防止这种“逆转”呢？一般认为需要具备以下两个条件：

(1) 反应系统和产物之间需有一定的间隔；(2) 存在有非常活跃的电子受体。在非生物系统中这两个条件同时具备的情况是罕见的，但在光合器官中同时具备有这两个条件。六十年代末美国科学家Clayton和Reed从一个光合细菌的突变种中提纯了光合细菌的反应中心。这一成就大大地推动了原初反应的研究。十几年来对各种类型的反应中心进行了详细的比较研究，其目的是为了得到转能效率高的生物原型，供仿生学制造高效的光电池以及其他能源研究的参考。

光合作用原初过程的研究过去着重在色素的物理和化学方面。光合作用是一个生命现象，人们对其中的蛋白质、蛋白质和色素的相互作用以及蛋白质和膜上类脂的相互作用等还不十分了解。

反应中心内的原初电子供体和电子受体的物理化学特性的研究是十分重要的。光合细菌的原初供体为其反应中心色素 $P_{870}$ 或 $P_{890}$ 、光系统 I 为 $P_{700}$ 和光系统 II 为 $P_{680}$ 。P 是色素 (Pigment) 的第一个字母，数字代表其主要吸收峰的波长。光系统 I 和细菌反应中心供体已知是叶绿素 (细菌叶绿素) 的双聚体，而 $P_{680}$ 可能亦是叶绿素的双聚体，但尚不能完全肯定。这些反应中心色素的氧化将改变吸收光谱同时形成自由基的阳离子，所以可以用快速光谱仪或顺磁共振 (EPR) 仪进行测量。

反应中心的原初电子受体是原初电子供体在电荷分离所产生电子的最初接受者。吸收光谱的变化证实了光系统 II 和细菌反应中心原初受体为质体醌和泛醌。由于快速技术的进展，现已知在原初受体之前还有中间的原初电子受体的存

在，在细菌反应中心内为细菌去镁叶绿素。

除了参与原初反应的色素、电子供体和电子受体以外，最近对反应中心的蛋白质特性也引起了注意。蛋白质参与能量的转换亦是十分重要的问题。

关于光合作用过程中的电子传递已较清楚，但对水的氧化和氧释放的机理，其知识尚十分贫乏。其中如辅助因子的类别和作用，参与反应的蛋白质的鉴定及其作用等都是有待进一步解决的问题。

还有应引起注意的问题，是膜在光合作用中的作用。反应中心是在光合膜上进行原初反应的，因此，光反应推动的电子传递、质子梯度和膜电位都是值得深入研究的问题：如电子传递链、光合色素等在膜上的空间排列对光能转化的效率有重要的作用。据估计每一个类囊体膜上约有 $10^5$ 个色素分子，大约有二百条电子传递链，所以它们的组织及排列都是需要深入研究的。光合膜的基础研究资料尚十分贫乏。对膜上蛋白质的三维结构的了解就更少。

在绿色植物和光合细菌中将光能转化为化学自由能 (Gibb's free energy) 的一些过程虽经过较多的研究，但如何将热力学的定律应用到能量贮存过程的效率和产物稳定性的计算尚存在不少问题，所进行的工作也极少。如激发色素分子在静态系统自由能贮存效率、产物稳定性等方面仅有少量研究。光合作用系统与其他生物系统都是开放系统，并处于非平衡态，因此，应用经典热力学有困难。只有开放系统的非平衡态热力学才适合光合作用系统。近年来，非平衡热力学虽有进展，但还不成熟。光合作用系统与其他生物系统所进行的过程都是从低序性到高序性、从无组织到有组织的过程，这种自组织现象在生物中是普遍存在的。如何从序性来研究光合作用是个值得探讨的问题。

## 第二章 时间分辨光谱技术

郭 础

### 一、概 述

光合作用原初过程包括一系列能量传递、电荷转移等微观步骤。这些步骤是在由一定分子按特定方式排列堆砌而成的光合膜上相继进行的。为确定参加这一过程的主要分子及其结构、状态，已有许多比较成熟的实验技术可供应用，相应的实验装置已发展成为商品仪器。如：电子显微镜、X 光衍射仪、各种荧光、吸收和散射光谱以及包括电子自旋共振、核磁共振、电子-核磁双共振等在内的各种波谱装置。但是，为揭示这一过程中各个基本步骤的机理及其相继进行的微观图景，必须在巧妙运用上述各种技术的同时，发展一些新方法以对有关分子的运动变化情况进行跟踪监测。

为揭示光合作用过程的微观图景，不论是以天然的或经过分离、提取、改性、重组等处理的活体，还是以人工模拟的分子体系为研究对象，所用的实验技术和研究一般分子过程的技术并无原则上的差别。也就是说，它们都需要一种激发分子的手段，利用这种手段可以在远小于所拟监测的微观过程持续时间的时间间隔内，将该种分子有选择地激发到指定的量子状态；同时，它们都需要有一种检测分子的手段，利用这种检测手段能在不明显扰动被激发的分子体系条件下，在同样或更小的时间间隔内，对处于该量子状态的分子运动变化过程逐步地跟踪监测。实验表明，分子运动变化的

绝大多数微观步骤都是快速过程，描述这些过程应采用纳秒 (ns) ( $10^{-9}$  秒)、皮秒 (ps) ( $10^{-12}$  秒) 的时间标度 (参阅图 2.1)。因而，分子体系的激发持续时间和分子体系检测技术的时间分辨率均应为纳秒、皮秒的数量级。

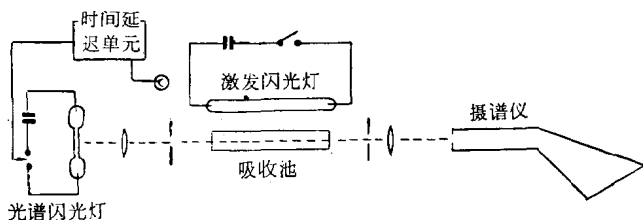


图2.1 “闪光光解法”原理示意图

对分子运动变化微观步骤直接进行观察的实验方法，首先由诺贝尔化学奖金获得者G.Porter等所建立 (1949)。在图2.1及图2.2中示出了这一方法的基本原理。他们采用气体放电闪光灯所产生的强光脉冲作为激发光；继之，或在经过一定的时间延迟之后的某一瞬间，检测被激发分子体系对另一探测光脉冲在不同波长处产生的吸收，构成“闪光光解法” (flash photolysis)；或在某一选定的波长处，记录对探测光吸收程度随时间的变化，构成“动力学光谱法” (kinetic spectroscopy)。这样，分析在某一瞬间记录的吸收光谱谱图，便可得知该分子体系在此瞬间所呈现的状态；根据某一波长处吸收程度随时间的变化，特别是综合不同瞬间所得的光谱资料，便可获得有关微观步骤的机理及其动力学规律。

应当指出，虽然传统的闪光光解和动力学光谱方法，仅是以分子对光辐射的吸收作为检测分子的参数，而且激发用的光脉冲持续时间也难以超过微秒 ( $10^{-6}$  秒) 数量级，从而使它仅适合于研究一些处于介稳激发态 (如电子三重激发

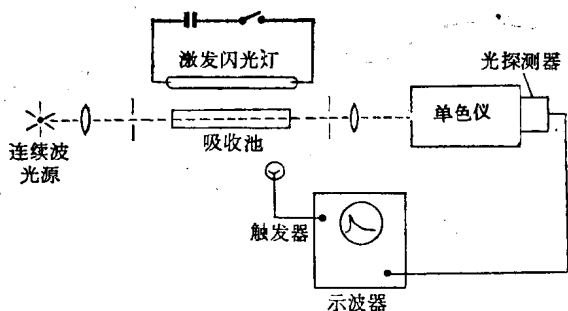


图2.2 “动力学光谱法”原理示意图

态)的分子和某些自由基的弛豫和转化。但更重要的是,这些方法的建立为进一步发展研究分子运动变化微观步骤的实验新技术奠定了基础,提供了重要的科学启示。

首先,这些方法表明:用光谱测量是可在不对被测体系引起明显扰动条件下监测被光脉冲激发的物质分子的衰变,并进而研究分子运动变化过程微观步骤的有效方法。不难设想,和测量激发态分子的吸收相类似,若考查激发态分子在不同频率处的发光强度分布,同样可以得出在记录这一发光光谱谱图的时间间隔内该激发态分子所处能量状态的资料;而监测在某一频率处发光强度随时间的变化,将可得出该激发态分子的多种衰变途径相互竞争的情况,以及各衰变途径的动力学参数,其中包括辐射跃迁、各种无辐射跃迁、以及能量传递、电荷转移和化学转化等各个微观步骤。如果不是监测激发态分子的发光,而是监测它们对光的散射,也必然对了解相应的分子运动变化微观步骤提供重要的实验依据。

其次,在这些方法中首次采用的“双光束技术”(即用—个光脉冲作为激发手段,另一光脉冲用于对过程实行监测的技术)原理为发展用超高时间分辨率检测光谱信息提供了

一种巧妙方法。关于这一点可以从闪光光解方法中清楚地看出，在这里记录光谱信息的时间分辨率并不是由光信号探测元件的时间响应所决定，而是取决于探测脉冲和被测分子体系的相互作用时间，即探测光脉冲的脉冲宽度。因为此时所要记录的仅是光谱信号在此相互作用时间间隔内的平均值。据

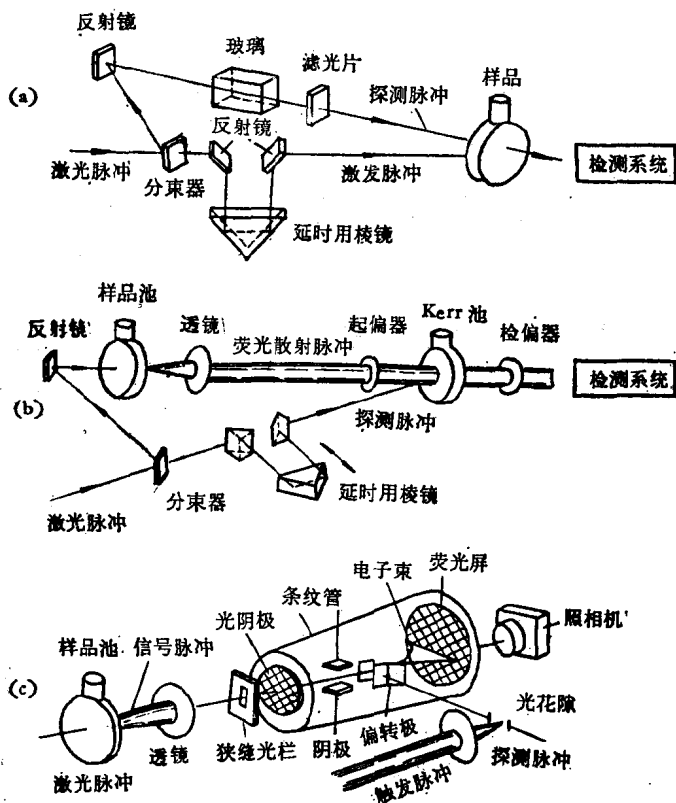


图2.3 光谱信号的皮秒时间分辨检测的技术方案设计

- (a) 双光束交叉技术方案,
- (b) 光学“选通”技术方案,
- (c) 条纹照相技术方案。

此可以设想,在许多因所用光电探测元件的时间分辨率难以达到皮秒数量级,从而难以进行直接实验测量的情况下,若以持续时间为皮秒的探测光脉冲作为驱动条纹照相机(streak camera)的快速扫描,或作为“选通”光学 Kerr 池(optical kerr cell)、频率上转换(frequency up-conversion)等光学开关的手段,完全能用时间响应较慢的光探测器而对所感兴趣的分子过程产生的吸收,荧光或散射光信号进行皮秒时间分辨测量,一些典型的设计方案如图2.3所示。

事实上,正是在上述的一般原理和闪光光解、动力学光谱技术所提出的启示的基础上,巧妙运用光脉冲技术和微弱信号检测技术的新成就,目前已建立了以利用吸收、荧光和散射等光和物质相互作用的各种物理效应为检测手段的纳秒、皮秒光谱测量新技术,并在包括光合作用原初过程在内的各种分子过程微观机理研究中显示出诱人的应用潜力。

## 二、荧光的时间分辨测量

### (一) 荧光衰变过程的纳秒时间分辨测量

荧光衰变过程的纳秒时间分辨测量技术可以分为两大类,即位相偏移法和脉冲法。前者是基于强度调制的光脉冲激发分子而产生的荧光脉冲之间有位相差,而这一位相差是与荧光寿命有关的事实建立的;后者则是直接跟踪监测衰变过程中荧光强度随时间变化的规律。这两种方法各有优缺点,同时,它们的基本技术也各有独特之处。下面分别讨论这些技术。

#### 1. 位相偏移法

为说明位相偏移法的原理,我们设激发脉冲的波型为  $G$

$I(t)$ ，分子的荧光在衰变过程中的强度分布用波型函数 $F(t)$ 描述。实验中观察到的荧光强度随时间变化的波型为 $I(t)$ ，实际上是 $G(t)$ 和 $F(t)$ 的卷积 (convolution)：

$$I(t) = \int_0^t F(t') G(t-t') dt'$$

若激发脉冲是被调制为频率 $\omega$ 的正弦波，即 $G(t) = A + B\cos\omega t$ 。而荧光衰变过程可用单一指数函数描述，即 $F(t) = F_0 \exp(-t/\tau)$ ，式中 $\tau$ 为荧光寿命，则：

$$I(t) = K\tau \left[ A + \frac{B}{\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2}} \cos(\omega t - \theta) \right]$$

式中 $\theta = \tan^{-1} \omega \tau$ ，是 $G(t)$ 和 $I(t)$ 之间位相差， $A$ 、 $B$ 、 $K$ 是和荧光绝对强度有关的常数。利用上述关系还可得出：荧光和激发光的振幅比值，即调制程度 $m$ 表示为：

$$m = \frac{1}{\sqrt{1 + \omega^2 \tau^2}} = \cos\theta$$

这样，利用位相偏移技术可测出 $\theta$ 或 $m$ 对激发光调制频率 $\omega$ 的依赖关系，若测量分别是在许多调制频率 $\omega_1$ 、 $\omega_2$ ……条件下进行，并相应地得到 $\theta_1$ 、 $\theta_2$ ……或 $m_1$ 、 $m_2$ ……，那么，利用这些结果在原则上可在无须引入其他假设的条件下，而求出荧光衰变的函数 $F(t)$ 。但在实际上，通常是在一个调制频率，最多是两个、三个调制频率下测量，此时为求得荧光衰变函数，通常是对 $F(t)$ 进行假设，然后与实验比较，直到得出能满足荧光强度随时间变化实验结果时为止，并认为该假设的函数即荧光衰变函数。

位相偏移法的实验装置原理为图2.4所示。激发用的光源强度以频率 $\omega$ 进行周期性调制，其中一部分用于激发被研究的分子体系，另一部分则作为参比信号用于和所产生荧光的位相比。荧光衰变过程时间分辨测量方法的基本技术是激

## 发光源调制和位相差检测。

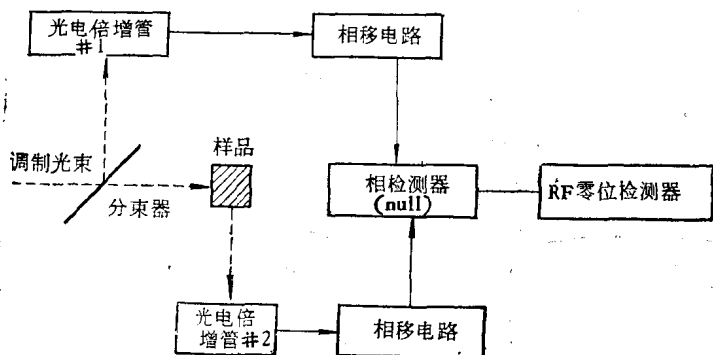


图2.4 位相偏移法测量荧光寿命的实验装置原理图

在激发光源调制中，首先应解决的问题是调制频率范围的选择。由上述各关系式可见，频率太低，则位相差 $\theta$ 变小，以致难以精确测量；频率过高，则荧光调制程度 $m$ 又显著降低。一般位相差检测的准确度为 $1^\circ$ 左右，而通常的荧光寿命为 $10^{-7}$ — $10^{-10}$ s，因而，选择的调制频率范围为1—20兆赫是适宜的。为了实现光源强度调制，一般可对光源本身的放电用射频调节，如以指定的频率进行射频放电或调幅的射频放电，也可用使激发光通过某些光学元件而周期性地改变其他密度的方法，如采用kerr池，电光调制晶体（pockel晶体）或超声调制器\*等，后一种方法只是使光源产生的光通过外加的另一光学元件，因此，对任一光源均可。前一种方法是在光源的气体放电期间施加影响，因而只适用于某些气体光源而已。

\* 在少量水（或醇溶液中）中产生的超声驻波，引起介质折光指数沿驻波方向变化，从而实现调制。