

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Биологический факультет

Кафедра физиологии и биохимии растений

**ФОТОСИНТЕЗ**

Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов

МИНСК  
2003

УДК 581.132(075.8)  
ББК 28. 57.я73  
К30

**А в т о р - с о с т а в и т е л ь:**  
Л. В. Кахнович

**Рецензенты:**  
доктор биологических наук, профессор Н. Г. Аверина;  
кандидат биологических наук, доцент Н. М. Орел

**Фотосинтез:** Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов /  
Авт.-сост. Л. В. Кахнович. – Мн.: БГУ, 2003. – 88 с.

Настоящее издание является составным элементом учебно-методического комплекса по курсу «Фотосинтез». В пособии приведены материалы, необходимые для выполнения лабораторных работ, подготовки к семинарам и контролю самостоятельной работы студентов.

Предназначено для студентов биологического факультета, специальности G 31.01.01 – «Биология».

**УДК 581.132(075.8)**  
**ББК 28. 57.я73**

© БГУ, 2003

## СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ И СИМВОЛОВ

- АДФ – аденозиндифосфат  
АТФ – аденозинтрифосфат  
Гл – глюкоза  
ДСЛП – длительность существования листовой поверхности  
ДХФИФ – 2,6-дихлорфенолиндофенол  
МОКТ – метаболизм органических кислот толстянковых  
НАД – никотинамидадениндинуклеотид  
НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат  
С<sub>3</sub> – растения, в которых первым промежуточным продуктом фотосинтеза является трехуглеродное соединение – фосfogлицериновая кислота  
С<sub>4</sub> – растения, в которых первым промежуточным продуктом фотосинтеза является четырехуглеродное соединение – щавелевоуксусная кислота  
САМ – метаболизм органических кислот по типу толстянковых (Crassulacean Acid Metabolism)  
ТХУ – трихлоруксусная кислота  
УВЛ – удельный вес листа  
ФГК – фосfogлицериновая кислота  
ФД – ферредоксин  
ФЕП – фосфоенолпируват  
ФМН – флавинмононуклеотид  
Фн – фосфат неорганический  
ФСМ – фенозинметосульфат  
ЩУК – щавелево-уксусная кислота  
ЭТЦ – электрон-транспортная цепь

## **ПРЕДИСЛОВИЕ**

Методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов являются дополнением к изданному курсу лекций «Фотосинтез». Цель – активизация самостоятельной работы студентов с учетом того, что индивидуальный процесс обучения должен быть эффективным. Студентам предлагаются вопросы и задания, детализирующие фактический материал, которым они должны овладеть самостоятельно. Это позволит использовать аудиторное время более эффективно. Кроме того, предлагается материал, для изучения которого необходима информация из дополнительных источников и научной литературы, а также проблемные вопросы, рекомендуются пути поиска ответов. От студентов это требует индивидуальной ответственности за свою работу.

По структуре пособие разделено на две части: материалы к лабораторным занятиям, конкретные задания к ним и к контролю самостоятельной работы студентов.

---

## ЧАСТЬ 1

---

### ЛАБОРАТОРНЫЕ ЗАНЯТИЯ

#### 1. Фотосинтетические пигменты

##### 1.1. Определение гетерогенности фонда хлорофиллов

Исследуя извлекаемость хлорофилла смесью полярных и неполярных растворителей (этиловый спирт, ацетон, петролейный эфир), были получены данные, подтверждающие наличие двух форм связи хлорофилла с белком. Установлено, что после извлечения некоторой части хлорофилла петролейным эфиром наблюдается почти остановка экстракции. Скорость экстракции сначала относительно велика, а потом снижается. Это дало дополнительные указания на существование двух форм хлорофилла, одна из которых поддается экстракции неполярным растворителем, тогда как другая имеет иную связь в хлоропластах и экстрагируется только полярными растворителями.

**Материал и оборудование.** Свежие листья какого-либо растения, этиловый спирт, ацетон, петролейный эфир,  $\text{CaCO}_3$ , 1 н раствор  $\text{NH}_4\text{OH}$ , кварцевый песок, весы, ножницы, скальпель; химическая посуда: химические стаканы, колбы, пробирки, ступки с пестиком, стеклянный фильтр с колбой Бунзена, пипетки с грушей, пипетки (2, 5, 10 мл).

**Ход анализа.** Дифференциальное извлечение пигментов проводят смесью петролейного эфира с этиловым спиртом (либо ацетоном) и последующим доизвлечением неразбавленным ацетоном.

Навеску сырой ткани листа измельчают и помещают в фарфоровую ступку с добавлением небольшого количества мела, кварцевого песка и небольшого количества смеси петролейного эфира со спиртом (5:1) и растирают. После растирания каждую порцию растворителя сливают с помощью специальной пипетки с грушей на стеклянный фильтр, укрепленный в колбе Бунзена для фильтрования. Оставшееся количество пигментов извлекают ацетоном. Извлечение ведут до полного обесцвечивания осадка.

Определение содержания пигментов проводят спектрофотометрически с последующим соответствующим расчетом.

Как известно, особенности спектров поглощения хлорофиллов *a* и *b* позволяют определить их количество в экстракте без предварительного

разделения. При определении содержания хлорофилла *a* и *b* используют следующие длины волн: 662 и 644 нм.

Для растворов пигментов в неразбавленном ацетоне используют следующие уравнения:

$$Ca = 9,784 \cdot E_{662} - 0,990 \cdot E_{644};$$

$$Cb = 21,426 \cdot E_{644} - 4,650 \cdot E_{662},$$

где *Ca* и *Cb* – содержание соответственно хлорофилла *a* и *b* (в мг/л);

$E_{662}$  и  $E_{644}$  – величина оптической плотности суммарной вытяжки пигментов при двух длинах волн, соответствующих максимумам пигментов в данном растворителе.

При извлечении пигментов петролейным эфиром с этиловым спиртом расчеты ведут по уравнениям:

$$Ca = 9,93 \cdot E_{662} - 0,78 \cdot E_{644};$$

$$Cb = 17,6 \cdot E_{644} - 2,81 \cdot E_{662}.$$

Расчет количества хлорофилла на 1 г сырой массы проводят по следующей формуле (отдельно хлорофилла *a*, затем хлорофилла *b*):

$$A = \frac{C \cdot V}{1000 \cdot a},$$

где *A* – количество хлорофилла *a* и *b* в мг/г сырой массы;

*C* – концентрация пигментов в мг/л;

*V* – объем вытяжки в мл;

*a* – навеска в граммах.

При расчете содержания хлорофилла на единицу площади листа ( $\text{см}^2$  или  $\text{дм}^2$ ) используют следующую формулу:

$$B = \frac{C \cdot V}{1000 \cdot s},$$

где *B* – количество хлорофилла (*a* и *b*) в мг/ $\text{см}^2$  (или в мг/ $\text{дм}^2$ );

$s$  – площадь листа, взятая для извлечения пигментов в  $\text{см}^2$  (или  $\text{дм}^2$ ). Остальные обозначения те же, что и в предыдущей формуле.

### **Задания к работе 1.1**

I. Определить и представить в виде обобщенной таблицы или диаграмм: 1) количество лабильной формы хлорофиллов  $a$  и  $b$  (мг/г сырой массы); 2) содержание прочносвязанной формы хлорофиллов  $a$  и  $b$  (мг/г сырой массы); 3) сумму лабильной и прочносвязанных форм хлорофиллов  $a$ ,  $b$  и  $a+b$ ; 4) их соотношение; 5) процент лабильной и закрепленной форм хлорофилла  $a$  и  $b$  от общей их суммы.

II. Объяснить, почему пигменты извлекаются из хлоропластов полярными растворителями и каковы причины различной извлекаемости пигментов полярными и неполярными растворителями.

### **Литература**

1. Третьяков Н. Н., Карнаухова Т. В., Паничкин Л. А. и др. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.

2. Специальный практикум по биохимии и физиологии растений. Калининград, 1991. 37 с.

## **1.2. Хроматографическое разделение пигментов. Количественное определение основных каротиноидов хлоропластов**

В настоящее время хроматографический метод разделения сложных смесей органических веществ является одним из основных методов биохимического анализа. Основоположителем хроматографического анализа является М. С. Цвет. В 1904 г. он впервые применил адсорбционную хроматографию для разделения пигментов листа.

Существуют различные методы хроматографического анализа. Одним из них является распределительная хроматография. Она основана на различном распределении компонентов смеси между двумя несмешивающимися жидкими фазами, одна из которых неподвижна, другая подвижна. Твердый носитель (бумага, порошкообразное вещество колонки) удерживает на своей поверхности неподвижную фазу растворителя (чаще всего вода или полярный растворитель). Какой-либо органический растворитель, частично или совсем не смешивающийся с водой, служит подвижным растворителем.

Исследуемую смесь вещества (например, смесь пигментов) наносят на хроматографическую бумагу и пропускают чистый подвижный растворитель. В процессе хроматографии, в силу того, что разные компоненты имеют различные коэффициенты распределения, отдельные вещества, увлекаемые подвижным растворителем, перемещаются с различной скоростью. Наибольшая скорость будет у компонентов смеси, которые имеют большое сродство к подвижной фазе. При этом компоненты смеси отделяются друг от друга и распределяются на различных участках в виде зон или пятен.

Для характеристики положения зон (пятен) вводится величина  $R_f$ :

$$R_f = \frac{\text{скорость движения вещества}}{\text{скорость движения растворителя}} = \frac{l}{L}$$

где  $l$  – расстояние между стартом и положением центра зоны (пятна) на хроматограмме;

$L$  – расстояние между стартом и фронтом движения растворителя.

Обычно более полярные вещества, для которых характерно большее сродство к полярной неподвижной фазе, имеют меньшую величину  $R_f$ . На принципе распределительной хроматографии основан хроматографический метод разделения на бумаге смеси пигментов.

**Материал и оборудование.** Свежие листья зеленого растения, кварцевый песок, насос, хроматографический сосуд, хроматографическая этажерка, хроматографическая бумага, ножницы, дырокол, безводный сернокислый натрий, углекислый кальций, этиловый спирт, ацетон, петролейный эфир, бензол, этиловый эфир; химическая посуда: стаканы, пробирки, мерные цилиндры, пипетки с грушами, колбы, стеклянные капилляры, ступки фарфоровые с пестиком, делительные воронки, стеклянный фильтр с колбой Бунзена, спектрофотометр, вентилятор.

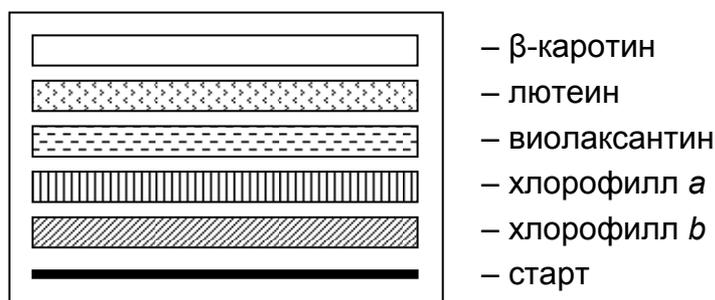
#### **Ход анализа**

**Получение вытяжки пигментов.** Навеску листьев, равную 0,5 г, тщательно растирают в сухой фарфоровой ступке с 1–2 г безводного сернокислого натрия и небольшим количеством углекислого кальция до сухого зеленого порошка. Измельченный растительный материал переносят на стеклянный фильтр и настаивают в течение 5 мин с 3–5 мл растворителя (смесь этилового спирта и ацетона в отношении 3:1). Небольшими порциями растворителя из растительного порошка на фильтре вы-

мывают все пигменты в пробирку, вставленную в колбу Бунзена. Для окончательной экстракции пигментов порошок промывают порцией этилового спирта и общий объем экстракта в пробирке доводят растворителем до 10 мл. Экстракт содержит сумму зеленых и желтых пигментов.

**Отделение каротина, лютеина и виолаксантина.** На два листа хроматографической бумаги размером 18·18 см на расстоянии 2 см от нижнего края полосой в 12 см наносят по 1мл полученной вытяжки пигментов. В процессе нанесения бумага подсушивается струей воздуха. После нанесения вытяжки бумагу хорошо подсушивают до полного испарения растворителя, свертывают в цилиндр (соединяя верхние края бумаги скрепкой) и помещают в хроматографическую камеру для разгонки (или размещая бумагу на этажерке).

В камеру предварительно (за 15 мин) наливают 30 мл бензол-петролейный эфир (в объемном отношении 2:1). Уровень растворителя должен быть ниже нанесенной полосы пигментов. Камеру плотно закрывают крышкой и затемняют черной бумагой. Через 20–30 мин, когда фронт растворителя поднимется на 12 см и будет видно четкое разделение пигментов, хроматограмму вынимают и подсушивают. Отдельные зоны пигментов располагаются в следующем порядке:



**Количественное определение каротиноидов зеленого листа.** Окрашенные полосы, соответствующие каротину и ксантофиллам (лютеин+виолаксантин), вырезают с двух хроматограмм, зоны одноименных пигментов соединяют, измельчают и помещают в два химических стакана (в один – зоны каротина, в другой – зоны лютеина и виолаксантина вместе). Для лучшей элюции пигментов измельченную бумагу в стаканах обрабатывают этиловым эфиром (1 мл), затем пигменты элюируют смесью спирт-ацетон (1:3). Растворитель прибавляют небольшими порциями, настаивают 3 мин и фильтруют в мерную пробирку, повторяя экстракцию до полного извлечения пигментов. Объем элюата доводят до 10 мл.

Оптическую плотность растворов каротина и ксантофиллов измеряют на спектрофотометре при следующих длинах волн: каротин (в ацетоне) – 450, ксантофиллы (в ацетоне) – 445 нм.

Концентрацию пигментов группы каротиноидов рассчитывают по формулам:

$$C_{\text{каротина}} = \frac{D_{450}}{236} \text{ мг/л};$$

$$C_{\text{ксантофилла}} = \frac{D_{445}}{215} \text{ мг/л},$$

где 236 и 215 – удельные коэффициенты погашения для каротина и ксантофилла при  $d=1$  см;

$D$  – величина оптической плотности при данных длинах волн.

Затем рассчитывают содержание данных пигментов на единицу массы или площади листа (мг/г сырой массы; мг/см<sup>2</sup> листа) в соответствии с формулами, приведенными в работе 1.1.

**Отделение неоксантина.** Вышеописанным образом 1 мл вытяжки наносится на бумагу. После высушивания бумага помещается в хроматографическую камеру, содержащую 40 мл смеси: бензол – петролейный эфир – этанол 96° в отношении 18:6:1 (или в отношении 29:10:1). Через 30–45 мин хроматограмму вынимают и высушивают. Все пигменты, кроме неоксантина, идут с фронтом. Неоксантин располагается ниже фронта на 2–3 см. Участок бумаги, содержащий неоксантин, вырезают из хроматограммы, измельчают и переносят в химический стакан. После обработки этиловым эфиром (1 мл) пигмент и элюируют смесью этанол – ацетон (1:3). Объем вытяжки не должен превышать 10 мл.

Оптическую плотность раствора неоксантина измеряют на спектрофотометре при длине волны 438 нм (в этиловом спирте).

$$C_{\text{неоксантина}} = \frac{D_{438}}{227} \text{ мг/л}.$$

### **Задания к работе 1.2**

1. Данные опытов оформить в виде таблицы.
2. Проанализировать полученные данные, установив: а) отношение ксантофиллов к каротину; б) какой из определенных каротиноидов находится в минимальном количестве (в %).

3. Объяснить, почему бензин, петролейный эфир и другие неполярные растворители экстрагируют в нормальных условиях только каротин, часть ксантофиллов и очень небольшое количество (1–5 %) хлорофиллов.

Таблица 1

Результаты количественного определения каротиноидов

Пигмент	Навеска растительного материала	Объем суммарной вытяжки пигментов	Нанесено на хроматограмму	Сырой вес ткани, соответствующий объему вытяжки, нанесенной на 2 хроматограммы	Объем элюата, мл	Значение оптической плотности на СФ-26	Концентрация пигмента в элюате, мг/л	Содержание пигментов	
								в объеме элюата	в 1 г сырой массы ткани
Каротин									
Ксантофиллы									
Неоксантин									

## Литература

Третьяков Н. Н., Карнаухова Т. В., Паничкин Л. А. и др. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.

## 2. Структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата

### 2.1. Выделение хлоропластов

Получение функциональных препаратов изолированных хлоропластов необходимо при проведении большинства исследований, связанных с выяснением механизма фотосинтеза: при определении фосфорилирующей и восстановительной активности хлоропластов, изучении их биохимического состава и структуры.

Одним из методов выделения хлоропластов является дифференциальное центрифугирование. Данный метод включает растирание навески

листьев со средой выделения, получение гомогената и его последующее центрифугирование со скоростями, позволяющими отделить фракцию хлоропластов от других, более тяжелых и более легких компонентов клетки. В качестве среды выделения могут быть взяты водные растворы хлористого натрия, сахарозы с определенной величиной осмотического давления или безводные органические среды (гексан, четыреххлористый углерод).

При выделении в водной среде хлоропласты сохраняют фотохимическую активность, так как при этом не нарушаются тилакоидные структуры, но хлоропласты теряют часть водорастворимых комплексов, в частности ферменты углеродного цикла. В связи с этим хлоропласты, изолированные в водные среды, мало способны к реакциям восстановления  $\text{CO}_2$ . При выделении в органической, безводной среде хлоропласты сохраняют целостность стромы и содержащиеся в ней водорастворимые вещества, но теряют способность к фотохимическим реакциям из-за экстракции жирорастворимых компонентов тилакоидных мембран (хинонов, каротиноидов) и нарушения систем транспорта электронов. Применение органических сред выделения эффективно при исследовании локализации в хлоропластах минеральных элементов, белков, ферментов, продуктов фотосинтеза.

При определении фотохимической активности хлоропластов используют водные среды выделения. Они должны быть изотоничны и химически инертны по отношению к компонентам хлоропластов.

При получении качественных изолированных хлоропластов должны соблюдаться определенные требования:

1. Среда изолирования должна быть изоосмотической с цитоплазмой для предотвращения набухания хлоропластов и разрыва их оболочки. Подбор подходящей осмотической концентрации среды производят, используя разные концентрации сахарозы – от 0,2 до 0,6 М. В некоторых случаях хорошие результаты дает применение 0,33 М сорбитола.

2. рН среды изолирования должно соответствовать значениям рН, существовавшим в тех компартментах клетки, где помещались хлоропласты. Чтобы не произошло сильного подкисления при разрушении клеток и разрыва вакуолей, в среду вводятся буферные добавки, тем больше, чем кислее клеточный сок растения. Задавая разные значения рН среды изолирования (от 6,0 до 9,0), подбирают интервал значений, при которых хлоропласты оказываются наименее поврежденными. Контроль сохранности проводят с помощью микроскопа, подсчитывая количество целых и разбитых пластид в поле зрения, или в квадрате камеры Горяева.

3. Чтобы оградить хлоропласты от повреждающего действия ферментов лизосом и эндогенных фенолов, следует возможно быстрее после разрушения клеток отделить хлоропласты из гомогената ткани центрифугированием (2–3 мин), проводимым на холоде.

Для защиты хлоропластов от действия фенолов можно добавлять высокомолекулярные адсорбирующие вещества – полиэтиленгликоль, сывороточный альбумин, ингибитор полифенолоксидазметабисульфит калия. Наряду с адсорбирующим действием эти вещества играют роль онкотиков, препятствуя переходу воды и низкомолекулярных соединений через крупнопористую внешнюю оболочку хлоропластов в так называемое «осмотическое» пространство.

4. Предохранение от окисления достигается охлаждением листьев, среды, суспензии хлоропластов. Нередко в состав среды изолирования вводят антиоксиданты – аскорбат, глутатион, тиоловые производные.

Для выделения хлоропластов используют водные среды следующего состава: 1) 0,35 М NaCl в 0,05 М *трис*-HCl буфере, pH 8; 2) 0,30 М NaCl в 0,06 М фосфатном буфере, pH 6,9; 3) 0,40 М сахарозы и 0,01 М KCl в 0,05 М фосфатном буфере, pH 6,9.

**Материал и оборудование.** Листья зеленых растений, *трис*-(оксиметил)-аминометан ( $C_4H_{11}NO_3$ ), натрий хлористый (NaCl), магний хлористый ( $MgCl_2$ ), сахароза ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ), феррицианид калия ( $K_3Fe(CN)_6$ ), ацетон; ножницы, пинцет, капроновая ткань (50 отверстий на  $1\text{ см}^2$ ), бумага фильтровальная, кисточки капроновые, пробирки центрифужные полиэтиленовые на 10 и 20 мл; посуда химическая: мерные цилиндры (10, 25 мл), пробирки, колбы (200–250 мл), пипетки градуированные, ступки фарфоровые с пестиком, стеклянные фильтры, колбы Бунзена; центрифуга, спектрофотометр, насос.

**Ход анализа.** Навеску листьев (2–10 г) предварительно охлаждают в течение 20 мин в полиэтиленовом пакете в холодильнике. Все растворы, посуду и принадлежности, необходимые для изолирования хлоропластов, также охлаждают в холодильнике (минус  $1^\circ$ , минус  $5^\circ\text{ C}$ ). Процедура приготовления суспензии хлоропластов занимает 5–6 мин от момента разрушения ткани.

Среднюю пробу листьев измельчают ножницами на отрезки длиной 5–7 мм. Измельченный растительный материал (2–10 г) растирают в фарфоровой ступке, замороженной в лед (минус  $1^\circ$ , минус  $5^\circ\text{ C}$ ), в течение 1–2 мин с пятикратным количеством (от массы листьев) среды выделения, содержащей компоненты в следующих концентрациях: сахаро-

за – 0,4 М, фосфатный или *трис*-буфер – 0,07 М, NaCl – 0,01 М, pH – 7,9–8,0.

Вместо ступки для измельчения материала можно использовать размельчитель тканей (гомогенизатор) в режиме 4–7 тыс. оборотов, экспозиция 15–30 с. Растертый материал отжимают пинцетом через четыре слоя капроновой ткани (50 отверстий на 1 см). Полученный фильтрат центрифугируют в центрифуге с охлаждением (минус 1°) при 100 g (800 об/мин) в течение трех–пяти минут. Осадок, содержащий обрывки тканей, разрушенные клеточные стенки и другие фрагменты, отбрасывают. Супернатант для охлаждения хлоропластов центрифугируют 15 мин при 2500 об/мин (1000 g). Осадок, содержащий хлоропласты, промывают средой выделения и центрифугируют 15 мин при 2500 об/мин. Хлоропласты гомогенизируют, и объем гомогената доводят средой выделения до 10–30 мл (в зависимости от целей опыта). При необходимости полученный препарат хлоропластов следует держать при температуре 0–3° С. В этих условиях активность хлоропластов сохраняется в течение нескольких часов. После получения суспензии хлоропластов необходимо оценить ее качество и определить содержание в ней хлорофилла.

**Оценка качества суспензии хлоропластов.** Качество суспензии хлоропластов можно проверить под световым микроскопом (х 900). Хлоропласты I класса, «интактные», идентифицируют по удлиненной форме и высокому светопреломлению. Они окружены светлым ореолом, грани внутри них неразличимы. Хлоропласты II класса, частично или полностью потерявшие ограничивающие наружную мембрану и значительную часть матрикса, выглядят более крупными, расплывшимися. Их оптическая плотность не отличается от оптической плотности среды, и они не имеют наружного светового ореола.

Необходимо обратить внимание, какого класса хлоропластов больше в суспензии (I или II), а также на присутствие или отсутствие фрагментов хлоропластов.

## **2.2. Определение хлорофилла в суспензии хлоропластов**

К 2 мл суспензии хлоропластов добавляют 8 мл неразбавленного ацетона. Раствор фильтруют через стеклянный фильтр, доводят 80 % ацетоном до 10 мл и определяют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при 652 нм против 80 % ацетона. Концентрация хлорофилла в растворе рассчитывается по формуле Арнона:

$$C_{(a+b)} = \frac{D_{652} \cdot 1000}{34,5} \text{ мг/л,}$$

где  $C_{(a+b)}$  – содержание хлорофилла (мг/л);

$D$  – оптическая плотность раствора при длине волны 652 нм.

Содержание хлорофилла в 1 мл суспензии равно:

$$C \cdot \frac{10}{1000 \cdot 2,0}.$$

В серийных опытах содержание хлорофилла (мг/1 мл исходной суспензии) можно рассчитать, умножая оптическую плотность ( $D_{652}$ ) на постоянный коэффициент ( $K$ ):

$$K = \frac{10}{34,5 \cdot 2,0} = 0,145$$

При изменении разведения следует рассчитывать соответствующую величину коэффициента  $K$ .

Зная навеску листьев, объем суспензии хлоропластов, необходимо рассчитать содержание хлорофилла на единицу массы сырых хлоропластов.

### ***Задания к работам 2.1 и 2.2***

1. Из-за наличия жестких тканей изолирование хлоропластов из листьев связано со значительным травмированием пластид, и получаемая суспензия может состоять в основном из хлоропластов какого-то одного класса. На основании полученных данных установите, какого класса хлоропластов находится больше в суспензии, а какого меньше. Чему это равно в процентном отношении?

2. Объясните, из-за чего хлоропласты II класса выглядят более крупными по сравнению с хлоропластами I класса.

3. Достаточно ли обосновано считать модельные системы из хлоропластов, по существу, идентичными тому, что имеется в растении? Объясните.

## Литература

1. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высш. шк., 1985. С. 194–196.
2. Методы исследования структуры фотосинтетического аппарата. Пушино-на-Оке, 1992. 174 с.
3. Методы изучения мембран растительных клеток. Л.: ЛГУ, 1986. С. 32–34.

### 2.3. Определение содержания и соотношения хлорофилла в пигмент-белковых комплексах реакционных центров и светособирающих комплексах

Для определения содержания хлорофилла в пигмент-белковых комплексах необходимо использовать данные по содержанию хлорофилла *a* и *b* листьях растений в расчете на единицу массы и единицу площади листа, а также данные по содержанию хлорофилла в суспензии хлоропластов и в расчете на единицу массы хлоропластов (см. работы 1.1 и 2.2).

На основании этих данных необходимо расчетным путем определить содержание хлорофилла *a* в пигмент-белковых комплексах реакционных центров и светособирающих комплексов, содержание хлорофилла *b* и *a+b* в светособирающих комплексах, а также отношение хлорофилл светособирающих систем / хлорофилл реакционных центров.

При этом исходят из того, что в реакционных центрах (РЦ) фотосистемы I и фотосистемы II листьев ячменя, шпината и др. содержится только хлорофилл *a*, а в светособирающих комплексах (ССК) соотношение хлорофилл *a* / хлорофилл *b* равно 1,2:1, хлорофилл *b* находится в светособирающих комплексах. Следовательно, зная количество хлорофилла *a* и хлорофилла *b* в листьях на единицу сырой массы и соотношение пигментов в светособирающих комплексах, можно определить количество хлорофилла *a* в светособирающем комплексе (ССК):

$$X_{\text{л}a} = \frac{1,2 \cdot [X_{\text{л}b}]}{1}$$

где  $X_{\text{л}a\text{ССК}}$  – содержание хлорофилла *a* в светособирающем комплексе в мг/г сырой массы (листьев или хлоропластов);

$X_{\text{л}b}$  – содержание хлорофилла *b*, мг/г сырой массы (листьев или хлоропластов).

При наличии общего количества хлорофилла *a* в листьях (или в расчете на единицу массы хлоропластов) и его количества в светособирающем комплексе рассчитывают содержание хлорофилла *a*, входящего в пигмент-белковые комплексы реакционных центров.

Полученные данные обобщить и представить в виде таблицы.

Таблица 2

**Содержание и соотношение хлорофилла в пигмент-белковых комплексах фотосистем хлоропластов**

$X_{L_a}PЦ$	$X_{L_a}ССК$	$X_{L_b}ССК$	$X_{L_{a+b}}ССК$	$X_{L_a}PЦ/X_{L_a}ССК$	$X_{L_{a+b}}ССК/X_{L_a}PЦ$
–	–	–	–	–	–

**2.4. Определение содержания белков в хлоропластах**

В тилакоидной мембране выделяют четыре главных полипептидных комплекса: комплекс фотосистемы I, в который входят реакционные центры и сопутствующие белки светособирающих комплексов; комплекс фотосистемы, в который дополнительно включена система фотоокисления воды; цитохром *b<sub>6</sub>-f*-комплекс, катализирующий транспорт электронов между двумя фотосистемами; АТФ-азный комплекс. Полипептидные компоненты этих комплексов составляют основную часть мембранных белков. Кроме этого, значительная часть белковых компонентов находится в строме хлоропластов.

Фотосинтетические пигменты локализованы в мембранах тилакоидов и входят в состав пигмент-белковых комплексов, в первую очередь в пигмент-белковый комплекс реакционных центров и светособирающих комплексов. Анализируя содержание общего количества хлорофиллов, невозможно показать всей сложности протекающих в хлоропластах биосинтетических процессов. В связи с этим дополнительную информацию дают данные по содержанию белков в хлоропластах и распределению и соотношению хлорофиллов в пигмент-белковых комплексах реакционных центров и светособирающих комплексах.

**Материал и оборудование.** 5 % ТХУ, 0,5 н NaOH, 2 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,1 н NaOH, 1 % раствор CuSO<sub>4</sub>, 2 % К-Na-виннокислый, реактив Фолина, бычий альбумин, NaCl 0,35 М, *трис*-HCl-буфер 0,05 М, ацетон; химическая посуда: пипетки с грушей, стеклянный фильтр, колба Бунзена, ступка фарфоровая с пестиком, пробирки, стаканы (50–100 мл), колбы (до 250 мл); центрифуга с пробирками, водяная баня, насос, спектрофотометр.

**Ход анализа.** Навеску зеленых листьев гомогенизируют, 0,2 мл гомогената заливают 4 мл 5 % ТХУ и помещают в холодильник на одни сутки. Затем гомогенат с ТХУ центрифугируют в течение 15 мин при 6000 g. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, проверяя ее на прозрачность (если она непрозрачна, центрифугируют дополнительно). К осадку приливают 1 мл 0,5 н NaOH, затем проводят гидролиз на водяной бане в течение 5 мин. Приливают 5 мл 0,5 н NaOH и центрифугируют 10 мин при 6000 g.

Со щелочным гидролизатом проводят реакцию на белки по методу Лоури. Предварительно необходимо приготовить растворы.

*Раствор А:* 2 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в 0,1 н NaOH; *раствор В:* 1 % CuSO<sub>4</sub>, 2 % К-На-виннокислый. Из растворов *А* и *В* при проведении опыта готовят *раствор С:* 1 мл *раствора В* в 50 мл *раствора А*; *раствор Е:* реактив Фолина.

**Определение содержания белков по методу Лоури.** К 1 мл щелочного раствора гидролизата приливают 5 мл *раствора С*, перемешивают и через 10 мин добавляют 0,5 мл *раствора Е*. Смесь выдерживают в течение 30 мин, после чего регистрируют поглощение света при 750 нм на спектрофотометре. Контролем служит смесь: 1 мл 0,5 н NaOH + 5 мл *раствора С* + 0,5 мл реактива Фолина. Для определения содержания белков предварительно строится калибровочный график по известным концентрациям белка (по бычьему альбумину). График представлен на рис. 1.

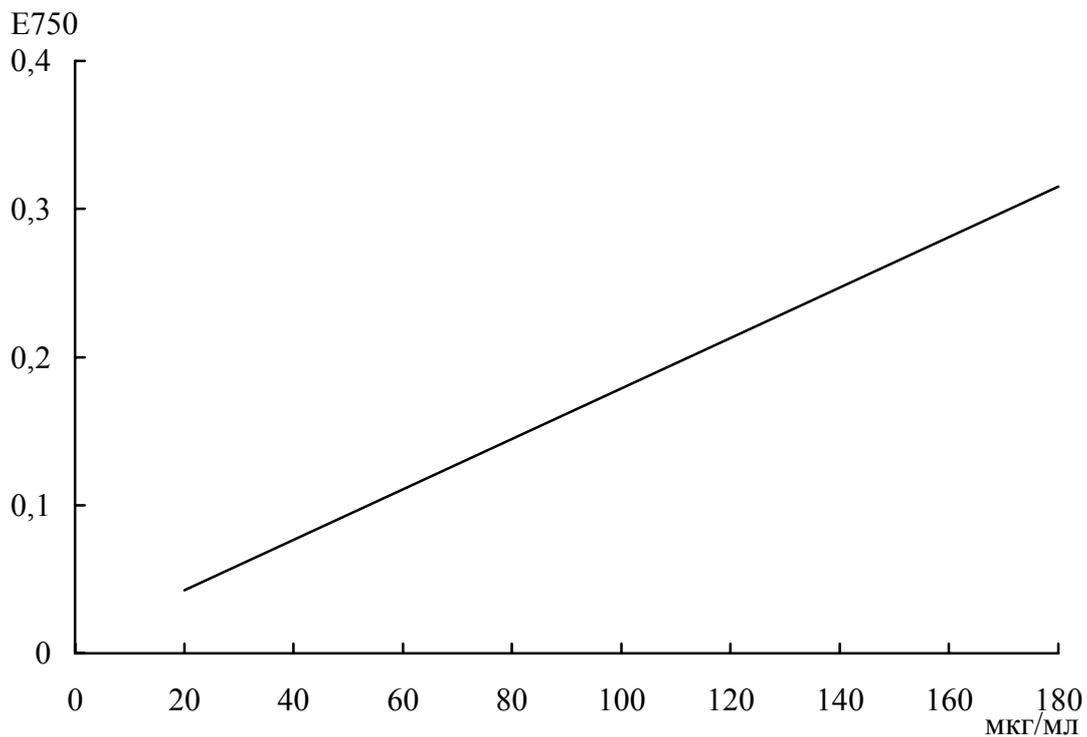
Количество белков рассчитывают в миллиграммах на грамм сырой массы листьев.

При определении содержания белков в хлоропластах предварительно проводят их выделение (см. работу 2.1), а затем определение белков в суспензии хлоропластов, используя метод Лоури. Расчет ведут на 1 мл суспензии, затем на единицу массы хлоропластов.

### **Задания к работам 2.3 и 2.4**

1. Установить на основе полученных данных, имеется ли зависимость между содержанием белков хлоропластов и концентрацией хлорофилла в пигмент-белковых комплексах фотосинтетических мембран.

2. Белки не образуют в тилакоидной мембране сплошного слоя, а находятся в форме глобул или пронизывают двойной слой липидов в определенных местах. Таким образом, формируется непрерывная гидрофобная структура, благодаря которой мембрана не растворяется в воде и включает пигменты, растворимые в липидах. Не мешает ли это взаимо



*Рис. 1 . Калибровочный график для определения концентрации белков (по бычьему альбумину)*

действию мембранных белков с водорастворимыми компонентами электрон-транспортной цепи? Объясните. Могут ли полученные Вами данные служить основой при ответе на поставленный вопрос?

3. Объясните, почему баланс белка в хлоропласте и в клетке в целом может выступать в качестве регулятора количественных соотношений структурных элементов фотосинтетического аппарата.

### **Литература**

1. Методы изучения мембран растительных клеток. Л.: ЛГУ, 1986. С. 39–45.

2. Рубин А. А., Венедиктов Н. С., Кренделева Т. Е., Пащенко В. В. Регуляция первичных стадий фотосинтеза при изменении физиологического состояния растений // Фотосинтез и продукционный процесс. М., 1988. С. 24–40.

3. Техника биохимического исследования субклеточных структур и биополимеров. Мн.: Наука и техника, 1977. С. 73–75.

4. Шлык А. А. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154–160.

### **3. Первичные реакции фотосинтеза (световой цикл)**

#### **3.1. Определение фотохимической активности хлоропластов**

Р. Хилл обнаружил способность изолированных из клетки хлоропластов при освещении восстанавливать ряд соединений с одновременным выделением кислорода. Эта реакция выделения кислорода хлоропластами на свету при наличии акцепторов электронов получила название реакции Хилла. В настоящее время установлено, что все этапы фотосинтеза (мобилизация электронов из воды, восстановление НАДФ, синтез АТФ, ассимиляция и восстановление  $\text{CO}_2$ ) могут осуществляться изолированными хлоропластами.

Показателем фотохимической активности изолированных хлоропластов может быть реакция Хилла. Данная реакция представляет комплекс начальных реакций фотосинтеза, связанных с фотоокислением воды, в которых мобилизованные из воды при участии фотосистемы II электроны направляются на восстановление введенных в реакционную смесь акцепторов электронов. Фотовосстановление акцепторов сопровождается выделением кислорода.

Методы определения фотохимической активности изолированных хлоропластов основаны на регистрации количества выделенного в реакции кислорода или количества восстановленных акцепторов. В качестве акцепторов электронов (или окислителей) в реакции Хилла могут быть: соли трехвалентного железа (феррицианид калия –  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ), оксалат железа –  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3$  окислительно-восстановительные индикаторы (2,6-дихлорфенолиндофенол), физиологические акцепторы электронов (хиноны, цитохромы, пластоцианин, НАДФ и др.). В зависимости от величины окислительно-восстановительного потенциала включение акцепторов электронов в цепь может происходить в ее различных участках.

Фотохимическая активность хлоропластов характеризует работу первичных фотохимических стадий фотосинтеза, которые являются источником энергии для процессов темнового восстановления  $\text{CO}_2$ . С этой точки зрения скорость реакции Хилла может служить одним из физиологических показателей уровня продуктивности фотосинтеза. Сходство фотосинтеза и реакции Хилла наблюдается также в характере

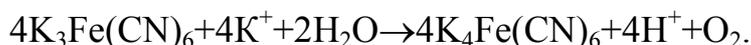
зависимости от факторов, определяющих физиологическое состояние растений.

Для определения фотохимической активности хлоропластов необходимо их выделить из листьев растений, используя методы выделения, изложенные в работе 2.1, и определить концентрацию хлорофилла в суспензии хлоропластов (работа 2.2).

**Материал и оборудование.** Зеленые листья, сахароза, 0,01 М КСl в 0,05 М фосфатном буфере, 0,002 М раствор феррицианида калия (железосинеродистого калия –  $K_3Fe(CN)_6$ ), ацетон; химическая посуда: фарфоровая ступка с пестиком, пипетки градуированные (1–5 мл), стаканы (100–150 мл), мерные цилиндры (10, 25 мл), пробирки; весы, капроновая ткань, ножницы, центрифуги, спектрофотометр.

**Ход анализа.** Измерение восстановительной активности изолированных хлоропластов в присутствии акцепторов электронов может быть произведено путем прямых спектрофотометрических определений количества образующихся восстановленных соединений. Приводится метод определения активности реакции Хилла с применением феррицианида калия ( $K_3Fe(CN)_6$ ).

**Фотовосстановление феррицианида калия.** Реакция идет по уравнению:



На каждые четыре моля восстановленного феррицианида образуется 1 моль кислорода.

Для определения фотохимической активности готовят суспензию хлоропластов, содержащую 20 мкг хлорофилла в 1 мл и 0,002 М раствор феррицианида калия ( $K_3Fe(CN)_6$ ).

Реакционная смесь в общем объеме 5 мл должна содержать 4 мл суспензии хлоропластов, эквивалентной 50–100 мкг хлорофилла, 1 мл водного раствора  $K_3Fe(CN)_6$ , содержащего 2 микромоля.

В две пробирки наливают по 5 мл реакционной смеси (4 мл суспензии хлоропластов + 1 мл 0,002 М раствора  $K_3Fe(CN)_6$ ).

На спектрофотометре измеряют исходную оптическую плотность растворов при 420 нм против стандартного раствора (4 мл суспензии + 1 мл  $H_2O$ ). Затем одну пробирку помещают в темный стакан (темновой контроль), а вторую освещают 1 мин в термостатной ванне при температуре 15–18° С. После этого измеряют оптические плотности растворов при длине волны 420 нм в обеих пробирках. Определение оптической

плотности проводят на спектрофотометре в течение 4–5 мин через каждую минуту освещения опытной пробирки. Опыт ставят в трехкратной повторности. Показания спектрофотометра для каждой повторности опыта записывают в таблицу по следующей форме:

Таблица 3

Вариант	$D_{420}$				
	1 мин	2 мин	3 мин	4 мин	5 мин
Опыт (свет)					
Контроль (темнота)					

Рассчитывают изменения оптической плотности за время опыта для опытной (свет) и контрольной (темнота) пробирки и вносят поправку на темновое восстановление  $K_3Fe(CN)_6$ . Количество восстановленного феррицианида калия в микромолях рассчитывают, используя миллимолярный коэффициент экстинкции (1,04) или калибровочный график для определения миллимолярного коэффициента экстинкции феррицианида калия (рис. 2).

Фотохимическую активность изолированных хлоропластов выражают в микромолях феррицианида калия, восстановленного за 1 ч 1 мг хлорофилла. Полученные усредненные результаты представляют в виде графика (на оси абсцисс – время освещения, мин, на оси ординат – количество восстановленного феррицианида калия, мкмоль/мг хлорофилла).

### Задания к работе 3.1

1. Основываясь на полученных данных по фотохимической активности хлоропластов и знании структуры и функции электрон-транспортной цепи фотосинтеза, предположите (с доказательствами), где включается в цепь использованный Вами в опыте искусственный *акцептор* электронов феррицианид калия.

2. При исследовании световых реакций фотосинтеза наряду с использованием искусственных акцепторов электронов применяется введение в реакционную смесь искусственных *электрондонорных* систем. Какие вещества могут служить источниками электронов при нарушении процессов фотоокисления воды? Возможный ток электронов.

3. В настоящее время действие ингибиторов широко используется при исследовании структуры электрон-транспортной цепи, природы и локализации отдельных компонентов ЭТЦ. Назовите ингибиторы работы

электрон-транспортной цепи и предполагаемые центры их действия. Объясните, какие нарушения в функции ЭТЦ они вызывают.

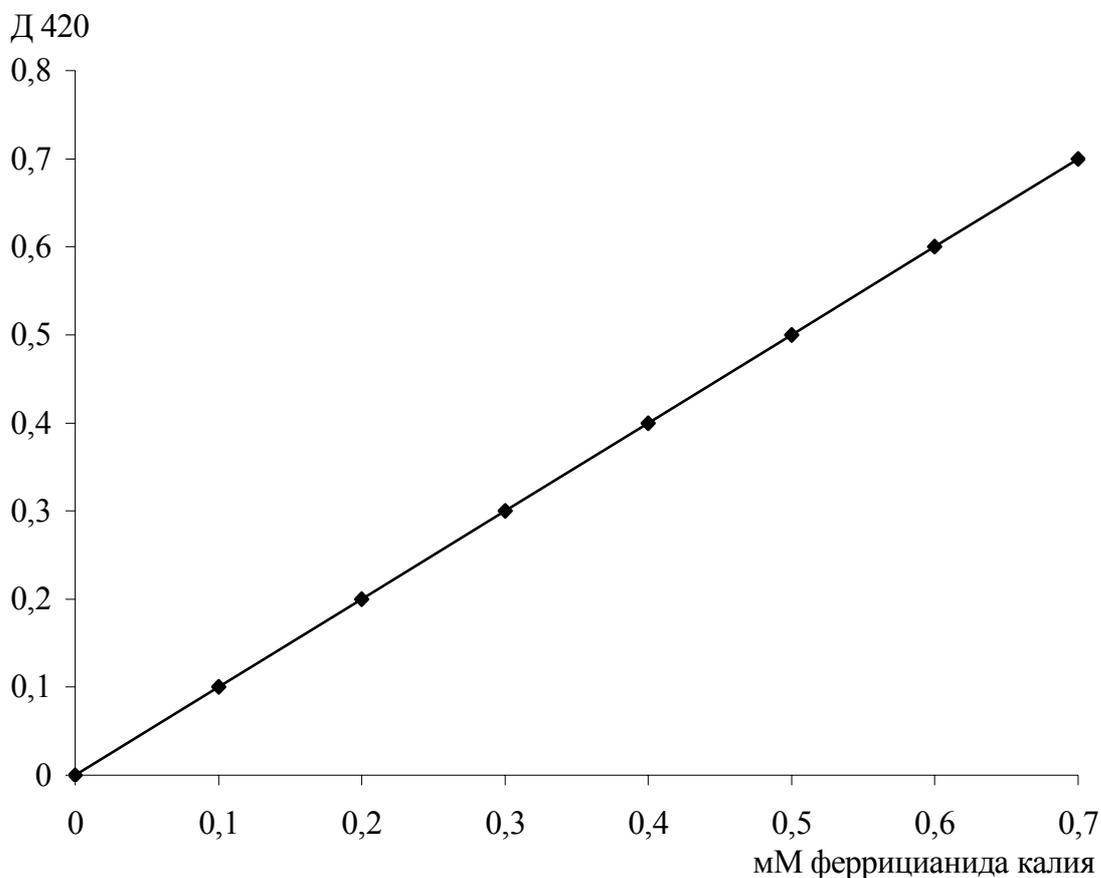


Рис. 2. Калибровочный график для определения миллимолярного коэффициента экстинкции феррицианида калия

### Литература

1. Гавриленко В. М., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высш. шк., 1985. С. 192–199.
2. Третьяков Н. Н., Карнаухова Т. В., Паничкин Л. А. и др. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.

### 3.2. Определение циклического фотосинтетического фосфорилирования

Энергетическая характеристика процесса фотосинтеза является важнейшим показателем работы фотосинтетического аппарата. Имеются разные методы оценки энергетической эффективности процесса, в основу которых положены следующие принципы:

1. Определение скорости процессов, требующих энергии АТФ.
2. Непосредственное определение количества образующегося аденозинтрифосфата в реакциях фосфорилирования.
3. Определение активности ферментных систем и частных реакций фотосинтеза, сопряженных с реакциями фотофосфорилирования (активность различных зависимых от света АТФ-аз, Фн-АТФ обмена, фотоиндуцированные изменения рН и др.).

Экспериментально исследуются два основных типа фотофосфорилирования – фотофосфорилирование циклическое и нециклическое. При циклическом фосфорилировании реакции связаны с работой фотосистемы I. В качестве кофакторов могут быть использованы феназин метосульфат (ФМС), пиоцианин, витамины  $K_1$ ,  $K_3$  (менадион), флавиномононуклеотид (ФМН), ферредоксин (ФД), 2,6-дихлорфенол-индофенол (ДХФИФ), цитохромы.

Фотофосфорилирование нециклического типа требует участия фотосистемы I и фотосистемы II. Конечными акцепторами электронов могут быть НАДФ (физиологический вариант) или феррицианид калия  $K_3Fe(CN)_6$  (нефизиологический вариант).

Наиболее широко используется для характеристики скорости фотофосфорилирования метод определения синтеза АТФ по убыли неорганического фосфора в реакционной смеси.

Метод определения циклического и нециклического фотофосфорилирования по убыли неорганического фосфора основан на учете количества неорганического фосфора в реакционной смеси до и после освещения. Количество поглощенного на свету фосфора (Фн) служит показателем активности процесса фотосинтетического фосфорилирования.

Активность фосфорилирования определяется в системе, включающей суспензию хлоропластов, кофакторы циклического или нециклического транспорта электронов, ионы магния, фосфатакцептирующую систему (АДФ) и неорганический фосфат ( $K_2HPO_4$ ). Реакционная смесь освещается в течение определенного периода времени в термостатных условиях, фиксируется добавлением трихлоруксусной кислоты ( $C_2HOCl_3$ ) и в

фильтрате контрольной и опытных проб определяется содержание неорганического фосфора.

Определение активности циклического фотофосфорилирования изолированных хлоропластов включает следующие этапы: 1) выделение хлоропластов; 2) проведение опыта; 3) определение фосфата в реакционной смеси.

**Материал и оборудование.** Растительный материал (листья), NaCl 0,35 М, *трис*-HCl буфер 0,05 М, pH 7,8, сахароза 0,4 М, NaCl 0,01 М, 0,2 М *трис*, 0,1 н HCl, 10 % трихлоруксусная кислота (ТХУ), уксуснокислый натрий 1 М, 1 н уксусная кислота, 1 % аскорбиновая кислота, 0,001 М раствор CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0,05 н раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 % (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MgO<sub>4</sub>, АДФ, феназинметосульфат, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; химическая посуда: фарфоровые ступки с пестиком, конические колбы небольшого объема, химические стаканы (100–200 мл), пробирки, воронки; беззольные фильтры, весы, марля, центрифуга с пробирками, фотоэлектроколориметр.

**Ход анализа.** Для выделения хлоропластов используют навеску листьев (2 г), охлажденную в ступке в холодильнике при температуре 3–5° С в течение 30 мин. Одновременно охлаждают колбу со средой выделения хлоропластов, пробирки для центрифугирования, стаканы (при наличии и гомогенизатор).

После этого навеску листьев тщательно растирают с десятикратным количеством среды выделения (20 мл) и гомогенат фильтруют в стакан через два слоя марли.

Состав среды выделения хлоропластов может быть взят какой-либо из следующих вариантов:

1. NaCl 0,35 М, *трис*-HCl буфер 0,05 М, pH 7,8 или
2. Сахароза 0,4 М, *трис*-HCl буфер 0,05 М, pH 7,8, NaCl 0,01 М.

Для приготовления *трис*-HCl буфера с определенным значением pH (в данном случае pH=7,8) смешивают 25 мл 0,2 М раствора *триса* (оксиметил-аминометана; C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>; 2,42 г на 100 мл; М.М.=121,14) с 35 мл 0,1 н HCl и доводят бидистиллированной водой в мерной колбе до 100 мл. Навеску соли NaCl растворяют в буферном растворе и доводят до конечной концентрации 0,35 М.

Хлоропласты из фильтрата выделяют методом дифференциального центрифугирования в три этапа:

1. Центрифугируют 3 мин при 800 об/мин (100 g). При этом осаждаются крупные фрагменты клеток, клеточные стенки ядра. Осадок отбрасывают, из надосадочной жидкости осаждают хлоропласты.

2. Надосадочную жидкость центрифугируют 10 мин при 2500 об/мин (1000 g). Надосадочную жидкость сливают и отбрасывают. Осадок хлоропластов промывают один раз средой выделения.

3. Осадок со средой выделения центрифугируют 10 мин при 2500 об/мин (1000 g). Надосадочную жидкость сливают. Осадок хлоропластов небольшими порциями среды выделения гомогенизируют (можно капроновой кисточкой) и переносят в мерный цилиндр, объем суспензии доводят средой выделения до 10 мл. Суспензию хлоропластов нужно хранить в темноте и на холоде. Необходимо определить количество хлорофилла в 1 мл суспензии (см. работу 2.2).

**Проведение опыта.** Опыт проводят в конических колбах небольшого объема. В каждую колбу наливают по 3 мл реакционной смеси (должен быть контрольный и опытный варианты). Компоненты реакционной смеси приведены ниже.

Реакционную смесь необходимо готовить в расчете на определенное количество колб (не менее чем на четыре). При расчете концентраций в исходных растворах учитывают необходимое количество компонентов в пробе и объем раствора, вносимого в колбу (табл. 4).

Приводим пример расчета: NaCl, молекулярная масса 58,5  
58,5 г – 1 моль; 58,5 мг – 1 миллимоль; 58,5 мкг – 1 мкмоль.

Необходимо в колбу взять 60 мкмолей NaCl. Расчет ведут следующим образом:

58,5 мкг – 1 мкмоль;  
X – 60 мкмолей; X = 3,51 мг.

Таблица 4

Компоненты	Количество мкмолей в колбе	Количество раствора в колбе, мл
Трис-HCl буфер, pH 7,8	45	0,9
NaCl	60	0,1
MgCl <sub>2</sub>	10	0,1
АДФ, pH 7,8	10	0,1
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10	0,1
Феназинметосульфат (ФСМ)	0,1	0,1
Вода бидистиллированная		0,6
Хлоропласты, эквивалентные 80–100 мкг хлорофилла		1,0
Общий объем реакционной смеси		3,0

Следовательно, в 0,1 мл раствора, вносимого в колбу, должно содержаться 3,51 мг NaCl. В 50 мл исходного раствора:

0,1 мл – 3,51;

50 мл – X;

$$X = \frac{50 \cdot 3,51}{0,1} = 1,755 \text{ г} / 50 \text{ мл.}$$

Растворы АДФ, ФСМ необходимо готовить непосредственно перед определением. Опыт проводят в термостатных условиях при температуре 16–18° С, освещенность на уровне колб ~ 20000 лк. Опыт проводят по следующей схеме: 1 и 2 колбы – свет, 3 и 4 – контроль (темнота).

В каждую колбу приливают по 2 мл инкубационной среды и 1 мл суспензии хлоропластов (в соответствии со схемой, приведенной выше). В контрольные колбы сразу добавляют 1 мл 10 % трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и 1 мл уксуснокислого натрия (1 М) для доведения смеси до pH = 4,0. Опытные колбы, содержащие 3 мл реакционной смеси, освещают 5 мин в термостатных условиях (16–18° С). После чего в каждую колбу быстро добавляют 1 мл 10 % трихлоруксусной кислоты и по 1 мл 1 М уксуснокислого натрия (CH<sub>3</sub>COONa).

Содержимое колб фильтруют в пробирки через беззольные фильтры и в фильтрате определяют содержание неорганического фосфора.

**Определение неорганического фосфора в реакционной смеси.** 0,5 мл фильтрата доводят в пробирке до 2 мл бидистиллированной водой (0,5 мл фильтрата + 1,5 мл воды). Затем в пробирку опытного раствора прибавляют 2 мл 1 М уксуснокислого натрия (CH<sub>3</sub>COONa), 4 мл ацетатного буфера, pH 4,0 (смешивают равные объемы 1 н уксусной кислоты и 0,25 М уксуснокислого натрия), 1 мл 1 % аскорбиновой кислоты, приготовленной на 0,001 М растворе CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O.

Через 10 мин добавляют 1 мл 1 % раствора (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, приготовленного на 0,05 н растворе H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Через 10 мин плотность раствора фосфорномолибденовой сини измеряют на фотоэлектроколориметре в кюветках 0,5 см с фильтром, соответствующим 660 нм (определение в контроле и в опыте).

Концентрацию фосфора в растворе определяют по калибровочной кривой (рис. 3). Показателем фосфорилирующей активности хлоропластов служит убыль неорганического фосфора за время инкубации (разница контроль – темнота, опыт – свет). Активность циклического фотосинтетического фосфорилирования изолированных хлоропластов выражают в микромолях фосфора за 1 ч в расчете на 1 мг хлорофилла.

### Задания к работе 3.2

1. Назовите, какие вещества могут выступать разобщающими фотофосфорилирование агентами. Какова их функция? Нарушают ли эти вещества электрон-транспортную цепь. Основываясь на знании процесса протекания фотофосфорилирования, объясните действие разобщающих агентов.

2. Объясните, с чем связан факт, что при введении агентов, разобщающих фотофосфорилирование, в фосфорилирующую систему изолированных хлоропластов ингибируется процесс фотофосфорилирования, а общий ток электронов, как правило, активируется. Наблюдается так называемый «эффект разобщения».

3. Уровень фосфорилирующей активности изолированных хлоропластов зависит от многих условий проведения опытов. Одним из них является осмотическая концентрация растворов, в которых происходит выделение хлоропластов и реакция фосфорилирования. В условиях какой осмотической концентрации хлоропласты не фосфорилируют? Объясните, с чем это связано.

4. Объясните, на основании каких данных считают, что циклическое фотофосфорилирование в эволюционном отношении является наиболее древней формой фиксации энергии.

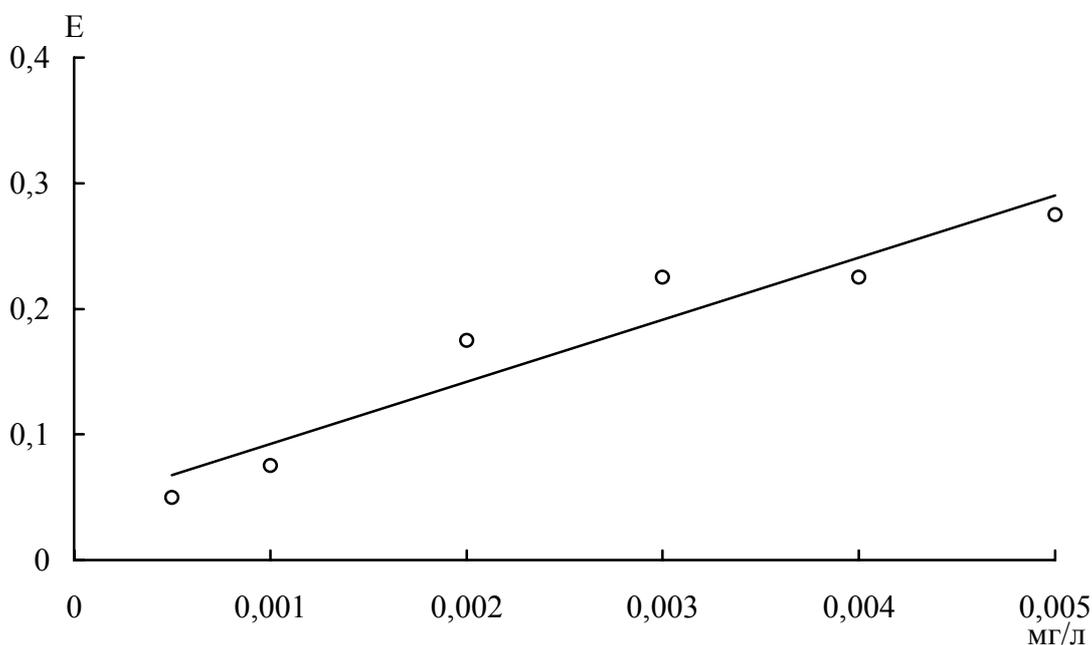


Рис. 3. Калибровочная кривая для определения фосфора

## Литература

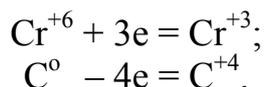
1. Гавриленко В. М., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высш. шк., 1985. С. 202–208.
2. Зеленский М. И., Сахарова О. В. Методика исследования фотофосфорилирования на основе измерения рН // Методы комплексного изучения фотосинтеза. Вып. 2. Л., 1973. С. 182–217.

## 4. Фотосинтетическая ассимиляция CO<sub>2</sub>

### 4.1. Определение интенсивности фотосинтеза по накоплению органических веществ (по углероду)

Фотосинтез включает сложный комплекс различных по природе реакций. Для характеристики интенсивности данного процесса могут быть использованы разные показатели: интенсивность газообмена, энергетическая эффективность фотосинтеза, активность отдельных звеньев фотосинтеза, содержание в хлоропластах различных окислительно-восстановительных систем. Интенсивность и направленность процесса фотосинтеза можно характеризовать накоплением отдельных продуктов фотосинтеза. Для оценки фотоассимиляции углерода листьями может быть использован фотоколориметрический метод.

При сжигании растительного материала в хромовой смеси происходит окисление, главным образом, углеводов, например глюкозы. Соответствующее уравнение реакции имеет следующий вид:



При окислении глюкозы ионы Cr<sup>+6</sup> желтого цвета восстанавливаются до ионов Cr<sup>+3</sup> синего цвета. Количество образовавшихся ионов Cr<sup>+3</sup> находится в линейной зависимости от количества окисленной глюкозы.

Анализ на содержание углерода основывается на определении изменения оптической плотности раствора хромовой смеси после сжигания в ней растительного материала. Измерения проводят на фотоэлектроколориметре при длине волны 528–590 нм (желтый светофильтр). При определении количества углерода в растительном материале необходимо ис-

пользовать калибровочную кривую для определения глюкозы в растворе (рис. 4).

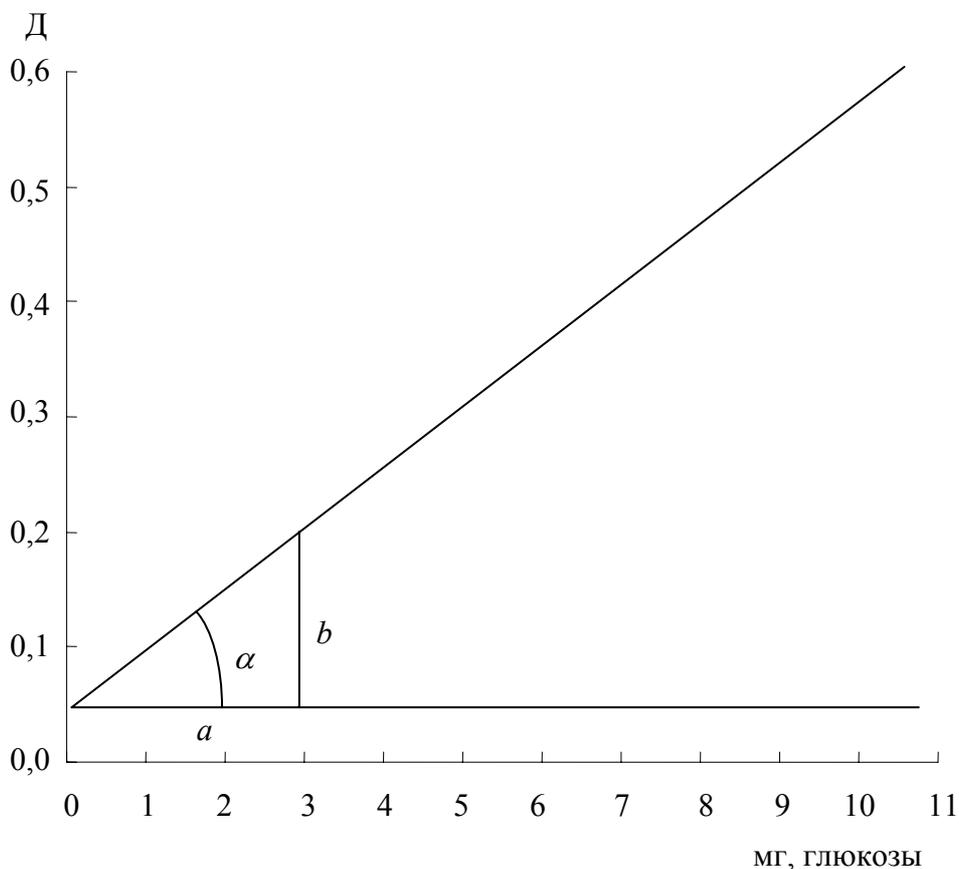


Рис. 4. Калибровочный график для определения количества глюкозы в растворе

**Материал и оборудование.** Сульфат меди ( $\text{CuSO}_4$ ), серная кислота (конц.), двуххромовокислый калий ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), глюкоза (х. ч.), растительный материал; химическая посуда: пробирки на 20 мл, мерные колбы на 50 мл, бюретки на 50 мл; песчаная баня, фотоэлектроколориметр.

**Ход анализа.** Необходимо приготовить хромовую смесь с катализатором. Для приготовления 1 л 0,4 н раствора хромовокислого калия ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) навеску (19,614 г) растворяют в мерной колбе на 1 л примерно в 500 мл воды. В качестве катализатора приливают 10 мл 10 % раствора  $\text{CuSO}_4$ , и раствор доводят до метки водой. Хромовую смесь 0,2 н концентрации, необходимую для фотоколориметрического определения углерода, получают разбавлением 0,4 н раствора  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  в соотношении 1:1.

**Калибровочный график для определения углерода.** Для определения количества углерода в растительном материале необходимо построить калибровочную кривую (рис. 4). Для этого в одиннадцать пробирок приливают 0, 0,1 и т. д. до 1,0 мл стандартного раствора глюкозы, 10 мл хромовой смеси. Реакционную смесь кипятят в течение 5 мин на песчаной бане. После охлаждения растворы из пробирок количественно переносят в мерные колбы на 50 мл, доводят до метки водой, перемешивают и измеряют оптическую плотность ( $D$ ) на фотоэлектроколориметре (кювета толщиной 3 см).

По экспериментальным точкам зависимости  $D$  от количества глюкозы строят калибровочную кривую. В соответствии с этим на рис. 4 приводится данный график. По котангенсу угла наклона калибровочного графика ( $\text{ctg } \alpha$ ) находят коэффициент ( $K_{\text{гл}}$ ) для глюкозы (он равен котангенсу угла  $\alpha$ ). Его находят как отношение  $a/b$  (см. рис. 4).

**Пример.** При определении оптической плотности хромовой смеси после сжигания с навеской листьев получены показания на фотоколориметре, равные 0,23 ( $b$ ,  $D_{\text{изм.}}$ ), что соответствует 4,1 мг глюкозы ( $a$ ).

$$\text{Ctg } \alpha = 4,1 : 0,24 = 16,66 = K_{\text{гл}} \text{ (мг)}.$$

Количество органического вещества в анализируемой пробе в пересчете на глюкозу ( $M_{\text{гл}}$ ) можно определить по формуле:

$$M_{\text{гл}} = K_{\text{гл}} (D_{\text{изм.}} - D_{\text{контр.}}),$$

где  $D_{\text{изм.}}$  – оптическая плотность хромовой смеси после сжигания органического вещества (навеска листьев);

$D_{\text{контр.}}$  – оптическая плотность чистой хромовой смеси.

Пробу растительного материала, содержащего от 2 до 4,5 мг углерода, переносят в пробирку, приливают 10 мл хромовой смеси; реакцию смесь кипятят в течение 5 мин. После полного охлаждения раствор из пробирки количественно переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят водой до метки, перемешивают. Оптическую плотность хромовой смеси определяют фотоколориметрически. В качестве контроля используется чистая хромовая смесь, оптическую плотность которой также измеряют на фотоколориметре.

Имея данные по оптической плотности чистой хромовой смеси ( $D_{\text{контр.}}$ ) и хромовой смеси после сжигания навески листьев ( $D_{\text{изм.}}$ ), необходимо вычислить количество органического вещества в анализируемой

пробе в пересчете на глюкозу, предварительно вычислив  $K_{\text{гл}}$  по котангенсу угла наклона калибровочного графика ( $\text{ctg } \alpha$ ) для полученной оптической плотности ( $D_{\text{изм.}}$ ).

$$M_{\text{гл}} = K_{\text{гл}} \cdot (D_{\text{изм.}} - D_{\text{контр.}}).$$

Исходя из соотношения атомных (или молекулярных масс), можно произвести пересчет органического вещества на углерод ( $M_{\text{C}}$ ) или углекислый газ ( $M_{\text{CO}_2}$ ):

$$M_{\text{C}} = 0,4 M_{\text{гл}} = 0,4 \cdot K_{\text{гл}} \cdot (D_{\text{изм.}} - D_{\text{контр.}}), \text{ мг};$$

$$M_{\text{CO}_2} = 1,47 M_{\text{гл}} = 1,47 \cdot K_{\text{гл}} \cdot (D_{\text{изм.}} - D_{\text{контр.}}), \text{ мг},$$

где  $M_{\text{гл}}$  – количество глюкозы, соответствующее содержанию органического вещества в растительной пробе, мг;  
0,4 и 1,47 – коэффициенты пересчета соответственно на углерод и диоксид углерода.

Затем необходимо произвести пересчет количества углерода и поглощенного углекислого газа (мг) на единицу сырой массы (1 г) или на единицу площади листа ( $1 \text{ см}^2$ ,  $1 \text{ дм}^2$ ). Количество углерода органического вещества (в мг), содержащегося в единице площади листа, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,4 M_{\text{гл}}}{S},$$

где  $S$  – площадь в  $\text{см}^2$ .

Полученные данные необходимо оформить в виде таблицы.

Таблица 5

**Содержание органического вещества в листьях растений,  
мг/г сырой массы**

Оптическая плотность		Количество органических веществ в пересчете на		
$D_{\text{изм.}}$	$D_{\text{изм.}} - D_{\text{контр.}}$	глюкозу	углерод	углекислый газ

### Задания к работе 4.1

1. Сравнить полученные данные для разных растений (представителей  $C_3$ -растений). Дать объяснение, с чем связаны полученные различия в интенсивности фотосинтеза. Какие внутренние и внешние факторы определяют интенсивность фотосинтетических процессов, и какие из них являются ведущими?

2. Объяснить, в каких случаях может проявляться фотоингибирование процесса фотосинтеза у растений. Укажите, с какими внешними и внутренними факторами это может быть связано. Фотоингибирование фотосинтеза выражено более у теневыносливых или светолюбивых растений?

3. Представьте графическую зависимость чистой ассимиляции  $CO_2$  у  $C_3$ -растений от устьичной проводимости при относительно нормальной освещенности (на оси абсцисс – проводимость в ммольях  $M^{-2} C^{-1}$ ; на оси ординат – поглощение  $CO_2$ , мкмоль  $M^{-2} C^{-1}$ ).

### Литература

1. Аликос Х. К. Фотоколориметрический метод определения содержания углерода в листьях мокрым сжиганием в хромовой смеси // Методы комплексного изучения фотосинтеза. Вып. 2. Л., 1983. С. 6–14.

2. Третьяков Н. Н., Карнаухова Т. В., Паничкин Л. А. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990. С. 109–113.

### 4.2. Определение активности рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы

Фиксация углекислоты в  $C_3$ -цикле осуществляется на рибулозо-1,5-бисфосфате (РБФ) при участии фермента рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы (КФ 4.1.1.39). При этом образуется трифосфоглицериновая кислота (ЗФГК). Для определения активности данного фермента обычно применяют два способа: 1) радиометрический, который основан на использовании  $^{14}CO_2$ , и 2) спектрофотометрический с использованием НАДФ·Н или НАД·Н в качестве кофактора реакции:



**Материал и оборудование.** Растительный материал, *трис*-HCl буфер, MgCl<sub>2</sub>, дитиотрейтол (ДТТ, или меркаптоэтанол), рибозо-5-фосфат (P5Ф), АТФ, NaHCO<sub>3</sub>, НАДФ·Н или НАД·Н, ЭДТА, 0,5 мМ меркаптоэтанол, 30 % уксусная кислота; химическая посуда: пробирки на 10 мл, пипетки на 0,1, 0,2 и 1 мл, ступка с пестиком, химические стаканы, воронки; секундомер, кварцевый песок, ножницы, капрон, гомогенизатор, центрифуга, спектрофотометр, термостат.

**Ход анализа.** Растительный материал из листьев C<sub>3</sub>-растений растереть в ступке с кварцевым песком или измельчить в гомогенизаторе (0,5 г в 5 мл среды) в 0,05 М *трис*-HCl буфере (pH 8,0), содержащем 1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 мМ ЭДТА, 5 мМ ДТТ или 5 мМ меркаптоэтанола. Желательно гомогенизировать листья быстро (1–3 мин). После фильтрации через капрон фильтрат центрифугируют при 18 000 g в течение 20 минут. К осадку добавляют 2 мл исходной среды и снова центрифугируют при тех же условиях. Объединяют оба супернатанта, доводят объем до 8 мл, и этот супернатант используют для определения активности фермента.

**Спектрофотометрический метод определения активности фермента.** В данном случае активность фермента определяют на основе изменения оптической плотности НАДФ·Н или НАД·Н при 340 нм. За единицу активности фермента принимают изменение оптической плотности на 0,01 в 1 мин (А). Для пересчета активности с единиц оптической плотности в микромолях НАДФ·Н (НАД·Н) применяют коэффициент экстинкции кофакторов – 6,22 см<sup>2</sup>/мкМ при 340 нм (6,22 – коэффициент экстинкции НАДФ·Н (см<sup>-3</sup>, микромоль<sup>-1</sup> при 340 нм).

При определении активности фермента необходимо иметь контрольную пробу. В контрольную кювету вносят все реактивы инкубационной среды, кроме субстратов реакции: АТФ и рибулозо-5-фосфата. Инкубационная среда содержит (мкМ/мл): MgCl<sub>2</sub> – 10, ДТТ – 10, P5Ф – 1, NaHCO<sub>3</sub> – 50, *трис*-HCl буфер – 0,5 М (pH 8,2), 0,15 мМ НАДФ·Н или НАД·Н, экстракт – 0,3 мл (из общего объема 8 мл). Вместо ДТТ может быть взят меркаптоэтанол.

Пробирки (контроль и опыт) со средой выдерживают в термостате при 30° С в течение 2-х минут. Реакцию (в опытной пробирке) запускают 0,2 мл смеси АТФ и рибулозо-5-фосфата. Через 4 мин реакцию останавливают добавлением равного объема 30 % уксусной кислоты. Измеряют против контроля оптическую плотность на спектрофотометре при 340 нм за 5 мин.

Пример расчета: ΔЕ (показания спектрофотометра за 5 мин) = 0,25; А (активность фермента) = 25. Если известно содержание белков в пробе

(например, 0,1), тогда активность фермента может быть выражена в расчете на 1 мг белка·мин (в данном случае она равна 250).

Для расчета активности фермента используют формулу

$$E = \frac{D_{340} \cdot V}{6,22},$$

где  $E$  – активность фермента в микромолях;

$D_{340}$  – изменение оптической плотности при 340 нм;

$V$  – объем пробы при спектрофотометрировании; мл

6,22 – коэффициент экстинкции НАДФ·Н (НАД·Н), см<sup>-3</sup>·микромоль<sup>-1</sup> при 340 нм.

Расчет активности фермента, производят на исходную массу растительного материала или на белок.

Для определения активности фермента, выраженного на 1 мг белка в час, полученные результаты умножают на 60 и делят на количество белка в пробе.

#### ***Задания к работе 4.2***

1. От каких факторов может зависеть скорость рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазной реакции *in vivo*: а) количества фермента, присутствующего в хлоропластах; б) концентрации субстрата (СО<sub>2</sub> и рибулозо-1,5-бисфосфата) вблизи фермента; в) кинетических констант, свойственных ферменту в условиях стромы хлоропласта; г) степени активации фермента.

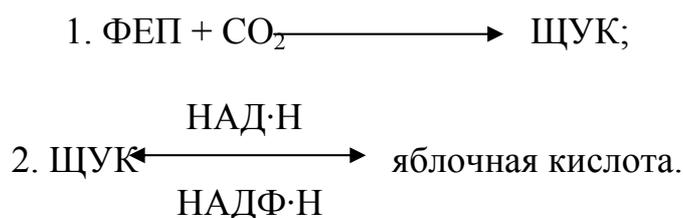
2. В условиях экстремально высоких или низких температур ферменты углеродного метаболизма в общем более стабильны, чем другие компоненты клетки. Растворимые ферменты при высоких температурах могут денатурировать. Однако ключевые ферменты углеродного метаболизма, в частности рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза, стабильны при температуре, вызывающей необратимую потерю способности к фотосинтезу. С чем это связано?

3. Являются ли на свету во время фотосинтеза лимитирующими реакции, катализируемые рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазой? Наблюдается активация данного фермента на свету или в темноте? Что происходит с Рубиско при переходе от света к темноте?

### 4.3. Определение активности фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕП-карбоксилазы)

Первичным акцептором углекислоты у  $C_4$ -растений является фосфоенолпируват (ФЕП), ферментом, осуществляющим карбоксилирование ФЕП, является фосфоенолпируваткарбоксилаза (ортофосфатоксалоацетаткарбоксилаза, 4.1.1.31; ФЕП-карбоксилаза). Она необратимо действует по уравнению:  $\text{ФЕП} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{щавелево-уксусная кислота (ЩУК)}$ . Включение  $\text{CO}_2$  происходит путем присоединения к атому углерода, находящемуся в  $\beta$ -положении по отношению к карбоксильной группе, поэтому этот тип фиксации  $\text{CO}_2$  называется  $\beta$ -карбоксилированием.

Имеются различные методы определения активности ФЕП-карбоксилазы. Одним из методов является спектрофотометрический. В основе данного метода лежат реакции:



По изменению оптической плотности НАД·Н или НАДФ·Н при 340 нм можно судить об активности ФЕП-карбоксилазы. Расчет активности производят на исходную массу растительного материала или на белок.

**Материал и оборудование.** Растительный материал ( $C_4$ -растения), *трис*-НСl буфер,  $\text{MgCl}_2$ , дитиотрейтол (ДТТ) или меркаптоэтанол, фосфоенолпировиноградная кислота (ФЕП),  $\text{NaHCO}_3$ , глутамат натрия, НАД·Н, ЭДТА. Оборудование: все, что указано для определения рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы.

**Ход анализа.** Навеску листьев  $C_4$ -растений (кукуруза) 500 мг растирают в ступке с кварцевым песком в 5 мл среды в 0,05 М *трис*-НСl, рН 8,0, содержащем 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,01 мМ ЭДТА, 10 мкМ меркаптоэтанола. Гомогенизацию проводят быстро (1 мин), после фильтрации через капрон фильтрат центрифугируют при 15 000 g 20 мин. К осадку добавляют исходный буфер (исходной среды) и снова центрифугируют при тех же условиях. После чего объединяют оба супернатанта, доводят до

определенного объема (8 мл) и этот супернатант (экстракт ферментов) используют для определения активности ФЕП-карбоксилазы спектрофотометрическим методом. Для определения активности ФЕП-карбоксилазы по изменению оптической плотности НАД·Н при 340 нм реакционную среду составляют из следующих реактивов: *трис*-НСI буфер – 100 мкМ, MgCl<sub>2</sub> – 5 мкМ, NaHCO<sub>3</sub> – 50 мкМ, НАД·Н – 0,25 мкМ, ФЕП – 10 мкМ, экстракт – 1 мл. Общий объем – 3 мл. В контрольную пробу вносят все, за исключением субстрата (ФЕП). Расчет производят аналогично расчету активности рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы (работа 4.2).

### **Задания к работе 4.3**

1. Выскажите свое мнение: одинаковую ли роль играет ФЕП-карбоксилаза у C<sub>4</sub>- и C<sub>3</sub>-растений или у данного фермента разные функции у этих растений? Чем это может быть обусловлено?

2. Содержание ФЕП-карбоксилазы в C<sub>3</sub>-растениях составляет 1 % от всего растворимого белка клетки, а в C<sub>4</sub>-растениях – 10–15 %. С чем связана высокая активность фермента в C<sub>4</sub>-растениях?

3. На основании полученных Вами данных объясните, где может быть локализован фермент ФЕП-карбоксилаза в клетках мезофилла. Какие Вы можете предложить доказательства?

4. Объясните, что является источником ФЕП для фиксации CO<sub>2</sub> у растений C<sub>4</sub>-типа.

### **Литература**

1. Магомедов И. М. Фотосинтез и органические кислоты. Л.: ЛГУ, 1988. С. 44–49.

2. Методы изучения мембран растительных клеток / Под ред. В. В. Полевого Л.: ЛГУ, 1986. С. 32–35, 66–68.

# КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

## 1. Программа спецкурса «Фотосинтез» для подготовки к экзамену

**Введение.** Физико-химическая сущность фотосинтеза и главные этапы его изучения. Фотосинтез как процесс трансформации энергии света в энергию химических связей. Фотосинтез как основа биоэнергетики биосферы. Роль фотосинтеза в процессах энергетического и пластического обмена растительного организма. Планетарная роль фотосинтеза.

**Структурно-функциональная организация и биохимический состав фотосинтетического аппарата.** Лист как орган фотосинтеза. Хлоропласты, их строение и функция. Особенности биохимического состава хлоропластов. Белки хлоропластов (структурные, растворимые и электрон-транспортной цепи). Функциональные комплексы белков хлоропластных мембран. Белоксинтезирующая система хлоропластов. Липиды хлоропластов: циклические и ациклические, их особенности и функции.

Фотосинтетические пигменты и их взаимодействие со светом. Хлорофиллы, их строение и функция. Биосинтез хлорофилла в растении. Электронно-возбужденное состояние хлорофилла и его дезактивация. Каротиноиды, их структура, свойства и функции. Фикобилины (билихромопротеины). Оптические особенности фотосинтетических пигментов. Организация и функционирование пигментных систем. Особенности биохимического состава и структуры тилакоидной мембраны хлоропластов. Пигмент-белковые комплексы тилакоидной мембраны, особенности их и функциональная роль. Фотосистемы растений и их характеристика. Фотосистема I, ее строение и функция. Фотосистема II, особенности ее строения и функция. Фотосинтез как сочетание сопряженно и последовательно функционирующих фотосистем. Реакционные центры фотосистем и светособирающие комплексы, их структура и функция. Пигменты антенного комплекса и реакционных центров. Преобразование энергии в реакционном центре. Другие компоненты тилакоидной мембраны.

Фотосинтетическая единица. Развитие учения о фотосинтетической единице. Модели и функция фотосинтетической единицы. Миграция

энергии в системе фотосинтетических пигментов. Типы и механизмы миграции энергии. Биологический смысл данного процесса.

Происхождение и биогенез хлоропластов.

**Световой цикл фотосинтеза.** Характеристика светового цикла. Структура электрон-транспортной цепи фотосинтеза (ЭТЦ). Характеристика компонентов ЭТЦ, особенности их функционирования. Комплекс промежуточных переносчиков ЭТЦ между фотосистемами I и II. Пластохинол-пластоцианин-оксиредуктаза, комплекс цитохромов *b<sub>6</sub>-f*.

Фотосинтетическое фосфорилирование, его сущность и история открытия. Механизм сопряжения окислительно-восстановительных реакций с синтезом АТФ в процессе фотосинтеза. Основные принципы изменения свободной энергии при взаимодействии окислительно-восстановительных систем. Типы фотофосфорилирования. Циклическое, нециклическое и псевдоциклическое фотосинтетическое фосфорилирование. Фосфорилирующая единица. Характеристика, особенности и локализация фосфорилирующих центров. Стимуляторы и ингибиторы фотофосфорилирования. Механизм фотосинтетического фосфорилирования. Сопрягающие факторы фотофосфорилирования (АТФ-синтетазный комплекс), локализация, структура и функция.

Фотоокисление воды в процессе фотосинтеза и выделение кислорода. Роль фотосистемы II в фотоокислении воды. Водоокисляющий комплекс, механизм фотоокисления. Роль марганца в функционировании водоокисляющего комплекса. Кофакторы фотосинтетического окисления воды, входящие в состав «неорганического ядра» водоокисляющего комплекса. Глобальное значение фотосинтетического окисления воды и выделения кислорода.

**Метаболизм углерода в процессе фотосинтеза (темновой цикл).** Общая характеристика темнового цикла фотосинтеза. Классификация растений по метаболизму углерода в процессе фотосинтеза, их особенности, основные группы.

$C_3$ -путь метаболизма углерода (восстановительный пентозофосфатный путь, цикл Кальвина), его характеристика, основные этапы и химизм реакций. Природа первичного акцептора  $CO_2$ . Структура и функция ключевого фермента  $C_3$ -цикла рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы/оксигеназы (Rubisco, Рубиско). Другие ключевые ферменты цикла. Реакции карбоксилирования, восстановления и регенерации акцептора  $CO_2$  в цикле. Регуляторные механизмы  $C_3$ -типа фотосинтеза.

Фотодыхание и метаболизм гликолевой кислоты. Реакции, направленные в обход реакций карбоксилирования в  $C_3$ -цикле (ответвление от

C<sub>3</sub>-цикла). Работа фермента рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы как оксигеназы. C<sub>4</sub>-путь метаболизма углерода в процессе фотосинтеза (цикл Хетча–Слека). Особенности C<sub>4</sub>-типа фотосинтеза, химизм реакций, его локализация и распространение у растений. Особенности растений, осуществляющих C<sub>4</sub>-цикл. «Кооперативный фотосинтез» (C<sub>3</sub>–C<sub>4</sub>-циклы), его особенности. Механизм декарбоксилирования. Работа карбоксилдонирующих систем, их типы у растений (фосфоенолпируват-карбоксикиназный, НАДФ-малатде-гидрогеназный, НАД-малатдегидрогеназный).

Фотосинтез по типу толстянковых растений (САМ-цикл), его суть, особенности и химизм реакций. Особенности метаболизма органических кислот у суккулентов.

Восстановительный цикл ди- и трикарбоновых кислот (цикл Арнона) как эволюционно более древний механизм ассимиляции CO<sub>2</sub>. Особенности цикла, его распространенность. Бактериальный фотосинтез, его особенности. Хемосинтез. Значение данных процессов.

Связь фотосинтетической ассимиляции с фотохимическими реакциями фотосинтеза. Конечные продукты фотосинтеза. Транспорт и перераспределение фотоассимилятов.

**Энергетическая эффективность фотосинтеза.** Квантовый расход и выход фотосинтеза. Коэффициент полезного действия (КПД) фотосинтеза, КПД световых и темновых реакций фотосинтеза.

**Эндогенные механизмы регуляции фотосинтеза.** Проводимость листа, фотохимическое и биохимическое лимитирование фотосинтеза. Гормональный эффект. Донорно-акцепторные отношения. Накопление углеводов. Возраст листа и растения. Регуляция фотосинтеза на уровне тилакоида, хлоропласта, клетки, органа, растения, фитоценоза, фотосинтез и фитогормоны. Регуляторная роль фотосинтеза в растении.

**Экология фотосинтеза.** Зависимость фотосинтеза от факторов внешней среды: интенсивности и спектрального состава света, концентрации CO<sub>2</sub> (баланс CO<sub>2</sub>) и O<sub>2</sub>, температуры, водообеспеченности растений, минерального питания. Фотосинтез и засоление почвы. Фотосинтез и загрязнение атмосферы вредными газами и тяжелыми металлами.

**Фотосинтез и продуктивность растений.** Фотосинтез как основа продуктивности растений. Показатели фотосинтеза: интенсивность фотосинтеза, фотосинтетический потенциал, чистая продуктивность фотосинтеза, ассимиляционное число, хлорофилловый и листовой индексы. Биологический и хозяйственный урожай, их зависимость от процесса фотосинтеза. Пути оптимизации фотосинтетической активности. Урожай

растений как интегральный процесс. Связь фотосинтеза с другими физиологическими процессами.

**Эволюция фотосинтеза.** Становление и развитие автотрофного питания. Эволюция пигментного аппарата, световых и темновых реакций фотосинтеза. Стабилизация механизмов фотосинтеза.

## Литература

### Основная

1. *Аверина Н. Г.* Структура и функция аппарата биосинтеза хлорофилла // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения III. Мн., 1995. С. 50–78.

2. *Кахнович Л. В.* Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. 168 с.

3. *Климов В. В.* Фотосинтетическое окисление воды // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения VII. Мн., 2001. С. 5–21.

4. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. чл.-корр. РАСХН проф. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1998. С. 88–166.

5. Фотосинтез / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1; Т. 2.

6. *Чайка М. Т.* Биосинтез хлорофилла и биогенез фотосинтетического аппарата; 54-е Тимирязевские чтения. Мн., 1996.

7. *Юрин В. М., Кахнович Л. В., Ермоленко Г. Л.* Физиологическая экология растений: Учеб. пособие. Ч. 1. Мн., 1995.

8. *Юсуфов А. Г.* Лекции по эволюционной физиологии растений. М.: Высш. шк., 1996. С. 61–113.

### Дополнительная

1. *Кефели В. И.* Фотоморфогенез, фотосинтез и рост как основа продуктивности растений. Пущино, 1999. 134 с.

2. *Рубин А. Б.* Механизмы регуляции первичных процессов фотосинтеза // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения V. Мн., 1999. С. 5–48.

3. Фотосинтез и продукционный процесс / Отв. ред. А. А. Ничипорович. М.: Наука, 1988. 278 с.

4. *Эдвардс Дж., Уокер Д.* Фотосинтез C<sub>3</sub>- и C<sub>4</sub>-растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 590 с.

## **2. Текущий контроль усвоения материала по основным разделам курса**

### **2.1. Фотосинтез как уникальная функция зеленых растений**

#### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Способность окислять воду с выделением молекулярного кислорода за счет энергии поглощенного света – одно из важнейших приобретений живой природы.
2. Фотосинтез как основа биологического круговорота энергии и веществ на Земле.
3. Появление кислородвыделяющих организмов привело к тому, что практически все процессы на поверхности Земли приняли биогеохимический характер.
4. Белорусские исследователи процесса фотосинтеза и их вклад в раскрытие данного процесса.

#### **Контрольные вопросы и задания**

1. Дать определение современного понятия процесса фотосинтеза.
2. В чем проявляется суть фотосинтеза как окислительно-восстановительного процесса?
3. Почему фотосинтез выступает движущей силой саморазвития, сбалансированности и адаптивной саморегуляции жизни на нашей планете?
4. Что такое фотосинтетически активная радиация и какова величина ее?
5. Объясните явление «парникового эффекта» и появление озоновых дыр.
6. Напишите суммарное уравнение фотосинтеза и объясните его суть.
7. Назовите экспериментальные доказательства происхождения кислорода в процессе фотосинтеза.
8. Чем можно объяснить повышение эффективности фотосинтеза при использовании импульсного света?
9. Какова роль светового и темного периодов фотосинтеза?
10. В чем преимущество энергии, аккумулированной растениями в процессе фотосинтеза, перед другими источниками нефотосинтетической энергии?

## **Литература**

1. *Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.* Биология: В 3 т. М.: Мир, 1990. Т. 1. 336 с.
2. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений: В 2 т. М.: Мир, 1986.
3. *Кахнович Л. В.* Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 5–15.
4. *Климов В. В.* Фотосинтетическое окисление воды // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения. VII. Мн., 2001. С. 5–21.
5. *Кочубей С. М.* Организация фотосинтетического аппарата высших растений. Киев: Альтерпресс, 2001. 204 с.
6. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос. 1999. 487 с.
7. Фотосинтез: В 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1, 728 с.

## **2.2. Фотосинтетические пигменты**

### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Биохимическая гетерогенность хлорофиллов в растении.
2. Основные, минорные и гипотетические пути образования хлорофиллов в растении.
3. Внутрипластидная локализация процесса биосинтеза хлорофилла.
4. Роль циклических тетрапирролов в метаболизме животных, бактериальных и растительных клеток.
5. Типы фотохимических реакций.
6. Корреляция между систематическим положением вида, рода, семейства, класса и набором содержания каротиноидов (каротиноиды бактерий, грибов, водорослей, высших растений).
7. Роль каротиноидов в молекулярной организации фотосинтетического аппарата.
8. Эволюция пигментных систем.
9. Фотосинтез без участия хлорофилла.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. От чего зависят оптические свойства пигментов?
2. Чем обусловлены гидрофильные и гидрофобные свойства хлорофилла и какая роль их в формировании пигмент-липо-протеиновых комплексов? Почему молекула хлорофилла электрически нейтральна?

3. Выделите основные этапы биосинтеза хлорофилла. В чем общность синтеза хлорофилла и гема?
4. Физиологическая функция хлорофиллов в растении.
5. Физиологическая роль каротиноидов в растительной клетке. Прикладное значение каротиноидов.
6. Каковы специфические особенности фикобилинов, где они локализованы и в каких организмах распространены?
7. В чем суть явления хроматической адаптации?
8. Основные и вспомогательные пигменты, функция их. Зачем растению необходимы вспомогательные пигменты?
9. Каким образом синтез хлорофилла зависит от метаболизма митохондрий?
10. Что общего между хлорофиллами и фикобилинами? В чем различия?
11. Фотосинтетический аппарат цианобактерий, кроме хлорофилла, содержит значительное количество фикоэритрина и фикоцианина. Максимум поглощения фикоэритрина находится в области между 480 и 600 нм, а фикоцианина – 620 нм. Какова функция этих пигментов?
12. У каких растений, светолюбивых или теневыносливых, больше содержание хлорофилла и почему?
13. В чем биологическая целесообразность появления в ходе эволюции в составе молекул хлорофилла гидрофобной группы фитола?
14. Какой предшественник хлорофилла будет накапливаться при отсутствии кислорода, света? Почему?
15. В фотосинтезе участвуют разные группы пигментов: хлорофиллы, каротиноиды, фикобилины. Почему нельзя было обойтись какой-либо одной группой пигментов?
16. Природа солнечного света.
17. В каких интервалах воспринимают солнечный свет растения?
18. Почему квант ультрафиолетового излучения имеет большую энергию, чем квант синего света? В какой степени ультрафиолетовое излучение используется в фотосинтезе?
19. Объясните природу поглощения света пигментами. Что такое фотовозбуждение молекулы, основные законы поглощения света.
20. Каким образом в процессе поглощения квантов солнечного света формируется синглетный и триплетный электронно-возбужденные состояния молекулы? Насколько длительный этот процесс?

21. Объясните возможные пути дезактивации фотовозбужденного состояния молекулы пигментов и природу их.
22. Поясните, что такое квант и каким образом частота излучения связана с энергией кванта?
23. Какую часть занимает фотосинтетически активная радиация (ФАР) относительно полной энергии солнечного излучения?
24. Чем можно объяснить, что в ходе эволюции фотосинтетических систем высшие растения имеют максимум поглощения световой энергии в синей и оранжево-красной области спектра?
25. Сколько квантов света необходимо для возбуждения одного моля хлорофилла?
26. Вычислите энергию одного эйнштейна синего света с длиной волны 450 нм ( $4,5 \cdot 10^{-7}$  м), если известно, что скорость света в вакууме  $3 \cdot 10^8$  м/с<sup>-1</sup>, постоянная Планка  $h = 6,62 \cdot 10^{-34}$  Дж·с, а число Авогадро  $N = 6,023 \cdot 10^{23}$ .
27. Бескаротиноидные мутанты растений становятся хлоротичными и затем погибают. Дайте обоснование возможных причин.
28. Известны ли мутанты с нормальной пигментной системой, но лишенные способности к фотосинтезу?
29. Какие объекты являются наиболее благоприятными для исследования генетических аспектов фотосинтеза?
30. Получены ли мутанты, содержащие хлорофилл *b*, но лишенные хлорофилла *a*?

### Литература

1. *Аверина Н. Г.* Структура и функция аппарата биосинтеза хлорофилла // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения III. Мн., 1995. С. 50–78.
2. *Беляева О. Б., Литвинов В. В.* Фотобиосинтез хлорофилла. М.: Наука. 1989. 101 с.
3. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений: в 2 т. М.: Мир, 1986. Т. 1. 366 с.
4. *Кахнович Л. В.* Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 16–33.
5. *Кочубей С. М.* Организация пигментов фотосинтетических мембран как основа энергообеспечения. Киев: Наукова думка, 1986. С. 5–21.
6. *Рубин А. Б.* Биофизика. М.: Высш. шк., 1987. Т. 1. С. 187–245.
7. Синтез хлорофилла и биогенез фотосинтетического аппарата // Фотобиология и мембранная биофизика. Мн., 1999. С. 6–118.

8. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1. С. 403–468.

9. Хебер У. Поглощение света листьями: выгода и проблемы // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения IV. Мн., 1997. С. 5–53.

10. Чайка М. Т. Биосинтез хлорофилла и биогенез фотосинтетического аппарата // Тимирязевские чтения. LIV. Мн., 1999. 79 с.

### **2.3. Структурная организация фотосинтетического аппарата**

#### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Взаимодействие пигментов с белками и липидами, характер взаимосвязи их.
2. Роль белковых компонентов фотосинтетических мембран, связанных с пигментами.
3. Целесообразность нахождения пигментов в фотосинтетических мембранах.
4. Хлоропластный геном, эволюция хлоропластного генома.
5. Взаимодействие хлоропластов с другими органеллами клетки.
6. Гипотезы возможного происхождения хлоропластов.
7. Антенна фотосистемы II, современные представления о ее организации.

#### **Контрольные вопросы и задания**

1. Объясните взаимосвязь между ультраструктурной организацией хлоропластов и их функцией.
2. Объясните роль отдельных компонентов тилакоидной мембраны в формировании ее физико-химических особенностей.
3. Какова роль света на различных этапах развития хлоропластов?
4. В чем «уникальность» хлоропластной ДНК?
5. Какие можно привести молекулярно-биологические доказательства в пользу теории эндосимбиотического происхождения хлоропластов?
6. Какова функция фотосистемы I и фотосистемы II?
7. Какие компоненты входят в центральную часть (core) комплекса фотосистемы I? Какова их функция?
8. Что может быть непосредственным донором электронов для фотосистемы I?
9. Какие компоненты входят в ядро (core) комплекса фотосистемы II?

10. В состав фотосистемы II входит и водоокисляющий комплекс. Какие компоненты составляют данный комплекс?
11. Тилакоидные мембраны характеризуются исключительно высоким уровнем содержания жирных кислот. Около 80 % среди них занимает линолевая кислота. Какие свойства мембран зависят от этого?
12. В чем биологический смысл миграции энергии? Каковы основные механизмы миграции энергии в фотосинтезе?
13. Где локализованы фотосистемы в тилакоидной мембране хлоропластов?
14. Какими факторами вызвана «к жизни» фотосистема II? Какие изменения произошли в результате этого в работе фотосинтетических систем?
15. «Пусковой» фотосистемой в фотосинтезе является фотосистема II. В чем смысл данного процесса и что это обеспечивает в работе систем?
16. Все ли фотосинтезирующие организмы содержат фотосистему I и фотосистему II? Поясните и приведите примеры функционирования систем.
17. Какова функция реакционного центра? Дайте определение реакционного центра (на основании структуры его и функции).
18. Какие подходы применяются в настоящее время для изучения интегральных мембранных белков и центров связывания кофакторов в хлоропластах? Приведите примеры и дайте объяснения их сути и значимости.
19. Согласно теории эндосимбиоза, «клетка-захватчик» цианобактерий вторглась в клетку «хозяина» («покоренная клетка»). При формировании фотосинтетических систем что могло быть взято от обеих клеток?
20. Бактериальный фотосинтез обходится одной фотосистемой, а фотосинтез высших растений, водорослей – двумя. С чем это связано?

### **Литература**

1. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений: в 2 т. М.: Мир, 1986. Т. 1. 366 с.
2. Кахнович Л. В. Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 34–68.
3. Клейтон Р. Фотосинтез. Физические механизмы и химические модели. М.: Мир, 1984. 350 с.

4. *Кочубей С. М.* Организация фотосинтетического аппарата высших растений. Киев: Альтерпресс, 2001. 204 с.
5. *Насыров Ю. С.* Фотосинтез и генетика хлоропластов. М.: Наука, 1985. 144 с.
6. *Рубин Б. А., Гавриленко В. Ф.* Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977. 322 с.
7. *Рубин А. Б.* Биофизика. М.: Высш. шк., 1987. Т. 1. С. 187–245.
8. *Требст А.* Система фотосинтетического транспорта электронов // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения. I. Мн., 1995. С. 7–28.
9. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1. С. 8–64, 112–125, 281–383, 501–532.
10. *Холл Д., Рао К.* Фотосинтез. М.: Мир, 1983. 134 с.
11. *Юсуфов А. Г.* Лекции по эволюционной физиологии растений. М.: Высш. шк., 1986. С. 61–113.
12. *Ширяев А. И.* Субмикроскопическая и макромолекулярная организация хлоропластов. Киев: Наукова думка, 1977. 205 с.
13. *Hall D. O., Rao K. K.* Photosynthesis piph edition // Cambridge University. Press, 1995. P. 210.

## **2.4. Световой цикл фотосинтеза**

### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Механизм фотосинтетического окисления воды и выделение кислорода как уникальный биологический процесс, имеющий глобальное значение.
2. Возможная роль ионов бикарбоната в процессе фотосинтетического окисления воды и выделения кислорода.
3. Принципы регуляции электрон-транспортной цепи фотосинтеза.
4. Роль белковых компонентов макромолекулярных пигмент-белковых комплексов в электронном транспорте.
5. Регуляция каталитической активности комплекса сопрягающего фактора (сопрягающих белков).
6. Условия, необходимые для быстрого переноса электронов.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. За счет какой энергии начинает функционировать электрон-транспортная цепь?
2. Поясните возможность разветвления цепи электронного транспорта при переносе электронов между двумя фотосистемами.

3. Какова взаимосвязь между физико-химическими свойствами пластохинона и его функциями? Охарактеризуйте пул пластохинонов хлоропласта.
4. Назовите одно- и двухэлектронные переносчики электрон-транспортной цепи. Объясните, как в цепи соединяется перенос электронов одно- и двухэлектронными компонентами.
5. Какова природа лимитирующей стадии в цепи переноса электронов между фотосистемами?
6. Какие существуют механизмы регуляции транспорта электронов между фотосистемами?
7. В чем заключается первичная фотохимическая реакция в реакционном центре фотосистемы II?
8. В результате первичного фотоакта в реакционном центре фотосистемы II образуется самый сильный биологический окислитель. Что он собой представляет? Чему равен его окислительно-восстановительный потенциал и достаточен ли он для окисления воды?
9. Что является основой энзиматического центра водоокисляющего комплекса?
10. Какие вещества могут выступать в качестве кофактора фотоокисления воды?
11. Чем можно объяснить изменение рН внутритилакоидного пространства и изменение рН между тилакоидным компартментом и стромой?
12. Где происходит фотохимическое разделение заряда и каковы особенности взаимодействия с ближайшими донорами и акцепторами электронов?
13. Чем обеспечивается движение электрона против термодинамического потенциала?
14. Откуда берется свободная энергия для синтеза АТФ в процессе фотофосфорилирования?
15. Какие конечные продукты образуются при нециклическом фотофосфорилировании?
16. Почему при псевдоциклическом фотофосфорилировании не выделяется кислород?
17. Чем обеспечивается образование протонного градиента в тилакоидной мембране?
18. Ингибиторы и разобщители процесса фотосинтетического фосфорилирования.

19. Почему циклическое фотофосфорилирование можно рассматривать как наиболее древнюю форму фиксации энергии?
20. Отличия между циклическим и нециклическим фотофосфорилированием.
21. В процессе функционирования электрон-транспортной цепи разница энергетического уровня между  $P_{680}$  и  $P_{700}$  реакционных центров обеих фотосистем может достигать 50 кДж. Достаточно ли этого количества энергии для образования макроэнергетической связи АТФ?
22. Приведите экспериментальные доказательства применимости хемосинтетической гипотезы П. Митчелла к тилакоидной мембране.
23. Какие имеются доказательства, что функциональная «фосфорилирующая единица» эквивалентна одному «тилакоидному диску хлоропластов»? Дайте объяснение.
24. Охарактеризуйте особенности реакций и структурную организацию компонентов, участвующих в синтезе АТФ.
25. Что входит в понятие «ассимиляционная сила»?

### Литература

1. Гавриленко В. Ф., Гусев М. В., Никитина К. А. Избранные главы физиологии растений. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1986. 440 с.
2. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений: Фотосинтез и дыхание. М.: Высш. шк., 1975. С. 194–224.
3. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений: в 2 т. М.: Мир, 1986. Т. 1. 336 с.
4. Кахнович Л. В. Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 69–102.
5. Климов В. В. Фотосинтетическое окисление воды // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения VII. Мн., 2001. С. 5–21.
6. Кочубей С. М. Организация пигментов фотосинтетических мембран как основа энергообеспечения. Киев: Наукова думка, 1986. 176 с.
7. Кочубей С. М. Организация фотосинтетического аппарата высших растений. Киев: Альтерпресс, 2001. 204 с.
8. Рубин А. Б., Гавриленко В. Ф. Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977. 322 с.
9. Рубин А. Б. Биофизика. М.: Высш. шк., 1987. Т. 1. С. 187–245.
10. Рубин А. Б. Принципы организации и регуляции первичных процессов фотосинтеза. Пущино, ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. 38 с.

11. Рубин А. Б., Кононенко А. А., Шайтан К. В. Электронно-конформационные взаимодействия в первичных процессах фотосинтеза // Итоги науки и техники. Сер. биофизика. Т. 21. М.: ВИНТИ, 1987. 160 с.

12. Рубин А. Б. Механизмы регуляции первичных процессов фотосинтеза. Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения V. Мн., 1999. С. 5–48.

13. Требст А. Система фотосинтетического транспорта электронов // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения I. Мн., 1995. С. 7–28.

14. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.

15. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1. С. 90–155, 541–673.

16. Холл Д., Рао К. Фотосинтез. М.: Мир, 1983. 134 с.

17. Шувалов В. А. Первичная конверсия энергии при фотосинтезе // Фотобиология растений и фотосинтез: Годневские чтения IV. Мн., 2000. С. 3–54.

## **2.5. Фотосинтетическая ассимиляция CO<sub>2</sub>**

### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Метаболическая регуляция восстановительного пентозофосфатного цикла (C<sub>3</sub>-цикла).
2. Стехиометрия и энергетика C<sub>3</sub>-цикла.
3. Образование и отток гликолата в C<sub>3</sub>-цикле.
4. Физиологическая регуляция C<sub>4</sub>-метаболизма углерода в фотосинтезе.
5. Взаимоотношения САМ-цикла с C<sub>4</sub>- и C<sub>3</sub>-метаболизмом углерода.
6. Использование метаболитов C<sub>3</sub>-цикла углерода.
7. Фотосинтез галобактерий.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. Почему восстановительный пентозофосфатный цикл (C<sub>3</sub>-цикл) называют первичным?
2. Почему при исследовании фиксации CO<sub>2</sub> в качестве объекта были взяты одноклеточные зеленые водоросли?
3. Каковы заслуги отечественных ученых при исследовании фиксации CO<sub>2</sub> растениями?

4. Как был открыт первичный акцептор  $\text{CO}_2$  в  $\text{C}_3$ -цикле (цикле Кальвина)?
5. Какой фактор будет лимитировать образование фосфоглицериновой кислоты в цикле Кальвина?
6. Назовите соединения, образованные в световых реакциях фотосинтеза, которые затем используются в следующей темновой фазе. На каких этапах цикла они необходимы?
7. Какие субстраты используются в цикле Кальвина? На какой стадии происходит включение их в реакции? Что является конечным продуктом цикла? Откуда поступает энергия и на что в химическом смысле она расходуется?
8. Почему в ходе эволюции растений в клетках листьев резко возросло содержание рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы?
9. Охарактеризуйте фермент рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазу (Рубиско).
10. При каких условиях ключевой фермент рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза функционирует как оксигеназа? Механизм данной реакции.
11. Что такое фотодыхание? В чем отличие фотодыхания от темнового дыхания?
12. Какие методические затруднения встречаются при определении интенсивности фотодыхания и как их можно преодолеть?
13. Что является субстратом фотодыхания?
14. Какие продукты фотосинтеза «сгорают» в процессе фотодыхания?
15. Физиологическая роль фотодыхания.
16. В растениях имеются два наиболее важных фермента – рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза и фосфоенолпируваткарбоксилаза. В каких реакциях участвует каждый из данных ферментов? Где локализованы эти ферменты?
17. Что такое Kranz-анатомия листа?
18. Как по анатомии листа можно выяснить, к какому типу фотосинтеза относится то или иное растение?
19. Охарактеризуйте особенности реакций декарбоксилирования и регенерации первичного акцептора у различных групп растений  $\text{C}_4$ -типа.
20. Зачем  $\text{C}_4$ -растениям дополнительный цикл фиксации  $\text{CO}_2$ ?
21. Почему  $\text{C}_3$ -растения содержат больше рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы, чем  $\text{C}_4$ -растения?

22. Какие растения относятся к  $C_3/C_4$  промежуточному типу фиксации  $CO_2$ ?
23. Чем фотосинтез у суккулентов отличается от фотосинтеза мезофитов  $C_3$ - и  $C_4$ -типов?
24. Какие типы хлоропластов лучше приспособлены для световых, а какие для темновых реакций?
25. Каким образом может влиять на  $C_3$ - и  $C_4$ -типы фотосинтеза снижение концентрации кислорода?
26. Какие экологические преимущества в условиях засухи и высокой температуры имеют растения с  $C_4$ -типом фотосинтеза?
27. Охарактеризуйте особенности растений с  $C_3$ -,  $C_4$ - и САМ-типом метаболизма.
28. Почему ни один из существующих альтернативных путей фиксации  $CO_2$  не смог занять место  $C_3$ -цикла (цикла Кальвина)?
29. Как используются растением промежуточные продукты фотосинтетического восстановления  $CO_2$ ?
30. Назовите основные пути фиксации  $CO_2$  фототрофными прокариотами.
31. Считается, что в темновых реакциях фотосинтеза свет существенной роли не играет. Так ли это? Доказательства «за» и «против».
32. Механизм фиксации  $CO_2$  у разных  $C_4$ -растений неодинаков. Чем это вызвано?
33.  $C_4$ -тип фотосинтеза, связанный с  $C_3$ -типом приводит к дополнительному расходу двух молекул АТФ на каждую фиксированную молекулу  $CO_2$ . Не расточительство ли это? Доказательства «за» и «против».
34. У современных низших растений метаболизм углерода по типу толстянковых (САМ-, или МОКТ-путь) встречается редко, но у двудольных растений развит хорошо. Есть ли он у однодольных растений? О чем это свидетельствует?
35. Расщепление крахмала, находящегося в хлоропластах, происходит при замедлении или прекращении фотосинтеза. Почему? Биологический смысл этого процесса.
36. Общим для  $C_4$ - и САМ-растений является то, что источником углерода для функционирования цикла Кальвина служит  $\beta$ -карбоксил  $C_4$ -дикарбоновой кислоты. Однако между ними имеются и существенные различия. В чем заключаются эти различия?

## Литература

1. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология: в 3 т. М.: Мир, 1990. Т. 1. 366 с.
2. Кахнович Л. В. Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 103–130.
3. Лайск А. Х. Кинетика фотосинтеза  $C_3$ -растений. М.: Наука, 1991. 96 с.
4. Магомедов И. М. Фотосинтез и органические кислоты. Л.: Наука, 1988. 202 с.
5. Методы комплексного изучения фотосинтеза. Вып. 2. Л., 1983. С. 6–14, 246–260.
6. Мокронос А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
7. Рубин А. Б., Гавриленко В. Ф. Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977. 322 с.
8. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
9. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 2. С. 207–266.
10. Холл Д., Рао К. Фотосинтез. М.: Мир, 1983. 134 с.
11. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез  $C_3$ - и  $C_4$ -растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986. 590 с.
12. Hall D. O., Rao K. K. Photosynthesis pifth edition // Cambridge University. Press, 1995. P. 210.
13. Makino A., Nakano H., Mae T., Shimada T., Yamamoto N. Photosynthesis, plant growth and N allocation in transgenic rice plants with decreased Rubisco under  $CO_2$  // Journal of Experimental Botany. Vol. 51. GMP Special Issue, 2000. P. 383–389.

## 2.6. Фотосинтез как основа продуктивности растений

### Темы рефератов и творческих сообщений

1. Фотосинтетическая продуктивность биосферы: А. Глобальная первичная продуктивность. Б. Первичная продукция, используемая человеком.
2. Использование продукции фотосинтеза в качестве топлива.
3. Размеры фондов углерода в глобальном углеродном цикле и потоки между ними.
4. Изменение содержания  $CO_2$  в атмосфере и вызывающие его причины.

## 5. Ресурсы фотосинтеза и будущее человечества.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. Дайте определение понятиям «биомасса», «истинный фотосинтез», «видимый фотосинтез», «истинная» и «чистая» первичная продукция.
2. В чем суть теории продукционного процесса? Кем она была сформулирована? На чем она базируется?
3. Объясните, что входит в понятие «продуктивность экосистемы».
4. Что представляет собой квантовый выход и квантовый расход фотосинтеза. Чему они могут быть равны?
5. Что понимают под показателями коэффициент полезного действия световых и темновых реакций? Чему они могут быть равны?
6. Чему равна глобальная чистая продуктивность фотосинтеза (в расчете на углерод) в год?
7. Какие фототрофы среди наземных обеспечивают наибольший вклад в истинную продукцию? Чему примерно она равна?
8. Площадь океанов в 2,5 раза больше площади суши. Какую часть составляет первичная продукция океанов от продукции суши?
9. Восстановление углерода атмосферы за счет биосферы составляет 7–10 лет. Сократится ли данный промежуток времени, если учесть дыхание, фотодыхание, и насколько?
10. В чем заключаются физиологические принципы программирования продукционного процесса?
11. Что представляет собой индекс листовой поверхности? Что включает понятие «оптимальный индекс листовой поверхности»?
12. Путем объединения показателя устойчивости листового покрова во времени и индекса листовой поверхности в качестве интегрального показателя было введено понятие длительности существования листовой поверхности (ДСЛП). Коррелирует ли рост и урожай растений с ДСЛП?
13. Может ли удельный вес листа (УВЛ) использоваться в качестве критерия при отборе высокопродуктивных растений?
14. Почему чрезмерное увеличение площади поверхности листьев может привести к снижению интенсивности фотосинтетических и ростовых процессов?
15. Охарактеризуйте основные показатели интенсивности фотосинтеза.
16. Дайте определение понятия «нетто-ассимиляция».

17. Можно ли понятие «нетто-ассимиляция» использовать как синоним интенсивности фотосинтеза? В каких размерностях выражаются данные показатели фотосинтеза?

### **Литература**

1. *Гуляев Б. И., Рожко И. И., Рогаченко А. Д.* Фотосинтез, продукционный процесс и продуктивность растений. Киев: Наукова думка, 1989. 152 с.
2. *Кахнович Л. В.* Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 131–142.
3. *Карманова И. В.* Математические методы изучения роста и продуктивности растений. М.: Наука, 1986. 223 с.
4. *Кефели В. И.* Фотоморфогенез, фотосинтез и рост как основа продуктивности растений. Пущино, 1999. 134 с.
5. *Мокроносков А. Т.* Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
6. *Ничипорович А. А.* Фотосинтез – ресурсы – человек. Пущино. 1990. 28 с.
7. *Рубин Б. А., Гавриленко В. Ф.* Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. 328 с.
8. Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. 317 с.
9. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
10. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 2. С. 365–394, 412–448.
11. Фотосинтез и продукционный процесс / Отв. ред. А. А. Ничипорович. М.: Наука, 1988. 278 с.
12. Фотосинтез и биопродуктивность; методы определения. М.: Агропромиздат, 1989. 459 с.

## **2.7. Экология фотосинтеза**

### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Поглощение CO<sub>2</sub> у растений с разными типами фотосинтеза, влияние на этот процесс факторов внешней среды.
2. Двойственная роль устьиц в фотосинтезе.
3. Лимитирование фотосинтеза на субклеточном уровне. Закон лимитирующих факторов.
4. Фотоингибирование фотосинтеза.

5. Адаптация фотосинтетических систем к резкой смене температурного режима.
6. Фотохимические окислители и фотосинтез.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. Объясните зависимость фотосинтеза от света, температуры, водного режима как функции времени.
2. Какая часть световой кривой фотосинтеза характеризует скорость фотохимических реакций?
3. Что такое световое насыщение фотосинтеза?
4. Отличие фотосинтетического аппарата светолюбивых и теневыносливых растений.
5. Способно ли изменение концентрации углекислоты регулировать скорость фотохимических реакций фотосинтеза?
6. Какой фактор внешней среды способен лимитировать скорость темновой фазы фотосинтеза из-за условий светового насыщения?
7. Какая связь между поглощением  $\text{CO}_2$  растением и испарением воды в процессе транспирации?
8. Зависит ли скорость первичных процессов фотосинтеза от температуры?
9. Почему повышение температуры приводит к возрастанию флуоресценции хлорофилла?
10. Почему уменьшение концентрации кислорода приводит к активации фотосинтеза, а увеличение концентрации его ингибирует фотосинтез?
11. Как можно объяснить дневную депрессию фотосинтеза?
12. В чем проявляется онтогенетическая обусловленность фотосинтеза?
13. Лимитирующее действие на фотосинтез света.
14. Что такое компенсационный пункт, или компенсационная точка фотосинтеза?
15. Какова будет зависимость скорости фотосинтеза от концентрации  $\text{CO}_2$  при различной интенсивности света? Привести примеры.
16. Скорость фотосинтеза как функция температуры листа. Кардинальные пункты температурной кривой.
17. При повышении температуры в большей степени повреждается ФС II, чем ФС I. Чем можно объяснить данный факт?

18. Дефицит какого элемента минерального питания в большей степени будет влиять на процесс фотосинтетического фосфорилирования, чем другие элементы?
19. В чем заключаются координационные свойства магния в фотосинтезе?
20. В хлоропластах сконцентрировано около 70 % меди, что находится в листьях. Какова роль этого элемента в фотосинтезе?
21. Что является первоочередной ответной реакцией фотосинтетического аппарата на засоление почвы?
22. Влияние фитогормонов на фотосинтез.
23. Влияние на фотосинтез тяжелых металлов (кадмия, свинца, никеля, цинка и др.).
24. Какое влияние оказывают знания экологии фотосинтеза на развитие прикладных аспектов науки, таких как физиология культурных растений, растениеводство, использование растительных ресурсов?
25. В чем выражается ингибирующее действие гербицидов на фотосистему II?
26. Что входит в понятие «фотобиосфера»?

### Литература

1. *Горишина Т. К.* Фотосинтетический аппарат растений и условия среды. Л.: Наука, 1989. 204 с.
2. *Кахнович Л. В.* Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 143–155.
3. *Кахнович Л. В.* Фотосинтетический аппарат и световой режим. Мн., 1980. 143 с.
4. *Лайск А. Х.* Соответствие фотосинтезирующей системы условиям среды // Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. С. 24–234.
5. *Магомедов И. М.* Фотосинтез и органические кислоты. Л.: ЛГУ, 1988. С. 92–100, 121–123.
6. *Мокроносов А. Т.* Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
7. *Мокроносов А. Т.* Фотосинтетическая функция и целостность растительного организма // 42-е Тимирязевское чтение. М.: Наука, 1981. 64 с.
8. *Рубин Б. А., Гавриленко В. Ф.* Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. 328 с.
9. Факторы среды и организация первичного процесса фотосинтеза / Отв. ред. Л. К. Островская. Киев: Наукова думка, 1989. 180 с.

10. Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. 317 с.
11. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
12. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 2. С. 273–364.
13. Фотосинтез и биопродуктивность; методы определения. М.: Агропромиздат, 1989. 459 с.
14. Фотосинтетический аппарат и факторы его регуляции / Под ред. Л. В. Кахнович. Мн.: БГУ, 1988. 158 с.
15. *Цельникер Ю. Л., Осипова О. П., Николаева М. К.* Физиологические аспекты адаптации листьев к условиям освещения // Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. С. 187–203.
16. Эколого-физиологические исследования фотосинтеза и дыхания растений / Отв. ред. О. А. Семихатова. Л.: Наука, 1989. 187 с.
17. *Юрин В. М., Кахнович Л. В., Ермоленко Г. Л.* Физиологическая экология растений: Учеб. пособие. Мн., 1995. Ч. I.

## **2.8. Эволюция фотосинтеза**

### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Эволюция хлоропластного генома.
2. Сравнительный анализ филогении и метаболизма фотосинтетических систем.
3. Происхождение двух фотосистем.
4. Эволюция структуры и функции хлоропластов.
5. Возникновение электрон-транспортной цепи и механизма карбоксилирования.
6. Экология фотосинтеза как показатель его биологической эволюции.
7. Возникновение листа как этап биологической эволюции фотосинтеза.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. Назовите и охарактеризуйте основные этапы химической и биологической эволюции в процессе становления автотрофного типа питания.
2. Какова роль пигментов в формировании фотоавтотрофного обмена?
3. Назовите возможные ступени эволюции способов автотрофного питания.

4. Назовите возможные связи типов обмена веществ в филогенезе.
5. В чем заключается значение мембран в эволюционном развитии фотосинтетического аппарата?
6. Как происходила стабилизация механизмов фотосинтеза в процессе эволюции?
7. Опишите основные этапы становления молекулы хлорофилла.
8. Сравните пигментный состав фотосинтезирующих бактерий, цианобактерий, хлоропластов высших растений. Установите сходство и отличия.
9. В чем заключается значение появления фотосистемы II?
10. В ходе эволюции автотрофного типа питания на смену разнообразным способам ассимиляции CO<sub>2</sub> появился наиболее специализированный способ – фотосинтез. Какие этапы прошла эволюция фотосинтеза?
11. Что обеспечили порфирины, сформировавшиеся в ходе химической эволюции, живым организмам?
12. Почему в ходе эволюции в молекулу хлорофилла был включен именно Mg, а не другие элементы? С чем это связано?
13. Что включает понятие «фотосенсибилизатор»?
14. Химическая эволюция способствовала отбору основных типов веществ, которые позже стали обязательными компонентами всех организмов. Приведите конкретные примеры.
15. Является ли автотрофное питание синонимом фотосинтеза? Объясните.
16. Какими факторами и условиями был вызван к жизни C<sub>3</sub>-цикл метаболизма углерода?
17. С чем связано, что в ходе эволюции для образования макроэргических соединений были выбраны фосфор и сера? Приведите доказательства целесообразности такого выбора.

### **Литература.**

1. *Кахнович Л. В.* Фотосинтез: Курс лекций. Мн.: БГУ, 2002. С. 155–162.
2. *Магомедов И. М.* Фотосинтез и органические кислоты. Л.: ЛГУ, 1988. С. 133–142.
3. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1. С. 150–154.
6. Эволюция функций в растительном мире / Под ред. В. В. Полевого. Л.: ЛГУ, 1985. С. 63–81.

4. Юсуфов А. Г. Лекции по эволюционной физиологии растений: Учеб. пособие. М.: Высш. шк., 1985. С. 28–52.

5. Юсуфов А. Г. Лекции по эволюционной физиологии растений. М.: Высш. шк., 1996. С. 61–113.

## **2.9. Регуляция фотосинтеза и его связь с другими функциональными процессами растительного организма**

### **Темы рефератов и творческих сообщений**

1. Эндогенные механизмы регуляции процесса фотосинтеза.
2. Экзогенная регуляция фотосинтетических систем.
3. Метаболитная регуляция фотосинтеза.
4. Ферментная регуляция фотосинтеза.
5. Ингибиторы процесса фотосинтеза.
6. Регуляторная роль фотосинтеза в растении.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. Как проявляется двойной генетический контроль за функционированием фотосинтетического аппарата со стороны генома и пластома?
2. Как объяснить тот факт, что в геномах хлоропластов клеток мезофилла и обкладки проводящих сосудов имеется ген большой субъединицы рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы, но экспрессируется он только в клетках обкладки?
3. Какие соединения могут выступать как эффекторы, способные регулировать экспрессию генома хлоропластов?
4. Каким образом регулируется эффективность первичных фотохимических реакций фотосинтеза?
5. Как осуществляется регуляция темновой фиксации  $\text{CO}_2$  на уровне фотосинтетического аппарата?
6. Какие механизмы клеточного контроля фотосинтетической функции Вам известны?
7. Как регулируется фотосинтез на уровне органа фотосинтеза – листа?
8. Какое значение может иметь функционирование  $\text{C}_4$ -цикла в замыкающих клетках эпидермиса для регуляции фотосинтеза на уровне листа?
9. Что определяет «заказ-информацию» на продукты фотосинтеза?

10. Объясните, что Вы понимаете под донорно-акцепторными связями.
11. Что такое атрагирующие центры? Приведите примеры.
12. Роль конечных продуктов фотосинтеза в регуляции фотосинтеза.
13. Какое действие оказывают на регуляцию фотосинтеза эндогенные фитогормоны? Примеры.
14. Может ли действие внешних факторов изменять энергетический баланс клеток? Примеры и доказательства.
15. Эволюция  $C_3$ -цикла происходила в те геологические эпохи, когда в атмосфере было значительно больше  $CO_2$ , по сравнению с кислородом, чем в настоящее время. Повлияло ли это на регуляцию работы ключевого фермента рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы?

### Литература

1. Мокронос А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
2. Мокронос А. Т. Донорно-акцепторные отношения в онтогенезе растений // Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. С. 235–250.
3. Насыров Ю. С. Генетическая регуляция формирования и активности фотосинтетического аппарата // Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. С. 146–164.
4. Рубин Б. А., Гавриленко В. Ф. Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1987. С. 276–287.
5. Семененко В. Е. Механизмы эндогенной регуляции фотосинтеза и адаптивные свойства хлоропласта // Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. С. 164–187.
6. Семененко В. Е. Саморегулирование физиологических функций и управление биосинтезом фотосинтезирующих клеток // Новые направления в физиологии растений. М.: Наука, 1985. С. 84–104.
7. Семененко В. Е. Генетический контроль и клеточный механизм регуляции фотосинтеза // Фотосинтез и продукционный процесс. М.: Наука, 1988. С. 69–81.
8. Семихатова О. А. Соотношение дыхания и фотосинтеза в продукционном процессе растений // Фотосинтез и продукционный процесс. М.: Наука, 1988. С. 98–109.
9. . Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
10. Фотосинтез: в 2 т. / Под ред. Д. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 2. С. 169–206.

### 3. Тестовые задания для первичного контроля знаний студентов

#### 1. Хлорофилл по своей химической природе представляет:

- 1) Липид;
- 2) Углевод;
- 3) Фитилметилхлорофиллид;
- 4) Органическую кислоту;
- 5) Белок;
- 6) Сложный эфир;
- 7) Порфирин.

А – 1, 4, 5

Б – 3, 6, 7

В – 2, 4, 5

#### 2. Хлорофилл высших растений локализован в:

- а) лейкопластах;
- б) хромопластах;
- в) хлоропластах;
- г) цитоплазме;
- д) митохондриях.

#### 3. Хлорофилл у высших растений может находиться в:

- 1) стебле;
- 2) корнях;
- 3) листьях;
- 4) цветках;
- 5) побегах.

А – 1, 2, 3

Б – 4, 5

В – 1, 2, 3, 5

#### 4. Отличия хлорофилла *a* и хлорофилла *b* у растений заключаются в:

- |                          |                |
|--------------------------|----------------|
| 1) химической структуре; | А – 2, 5       |
| 2) физических свойствах; | Б – 1, 2, 3, 4 |
| 3) химических свойствах; | В – 4, 5, 1    |
| 4) функции;              |                |
| 5) отличий нет.          |                |

**5. Гидрофильные свойства хлорофилла связаны с:**

- 1) его азотсодержащим порфириновым ядром – «головой» молекулы;
- 2) углеродной цепью – фитоловым «хвостом»;
- 3) наличием большого числа двойных связей;
- 4) наличием связи хлорофиллов с липидами.

А – 2, 3    Б – 1, 4

**6. Гидрофобные свойства хлорофиллу придает наличие в молекуле:**

- а) пиррольных колец;
- б) магния;
- в) фитолового «хвоста»;
- г) метинных мостиков ( $-\text{CH}=\text{}$ );
- д) циклопентанового кольца.

**7. В бурых водорослях содержатся только хлорофиллы:**

- 1) а;                                    А – 1, 2
- 2) б;                                    Б – 2, 3
- 3) с<sub>1</sub>;                                   В – 1, 3, 4, 5
- 4) с<sub>2</sub>;
- 5) d.

**8. Универсальным предшественником всех тетрапиролов является 5-аминолевулиновая кислота, синтезирующаяся двумя путями – С-4 и С-5. С-5-путь свойственен:**

- 1) животным;                                    А – 1, 3
- 2) дрожжам;                                    Б – 2, 3, 4, 5
- 3) высшим растениям;                                    В – 1, 4
- 4) грибам;
- 5) некоторым бактериям.

**9. Исходными веществами для синтеза 5-аминолевулиновой кислоты у высших растений служит:**

- а) глицин;
- б) сукцинил-КоА;
- в) ацетат;
- г) глутаминовая кислота;
- д) малат.

**10. Хлорофилл не участвует в работе:**

- |                                    |                |
|------------------------------------|----------------|
| 1) реакционного центра;            | А – 1, 3, 5    |
| 2) светособирающих комплексов;     | Б – 2, 4, 6    |
| 3) миграции энергии;               | В – 1, 2, 3, 4 |
| 4) электрон-транспортной цепи;     |                |
| 5) в ассимиляции CO <sub>2</sub> ; |                |
| 6) в синтезе углеводов.            |                |

**11. Каротиноиды по своей химической природе являются:**

- |                              |          |
|------------------------------|----------|
| 1) белками;                  | А – 1, 5 |
| 2) сложными эфирами;         | Б – 3, 6 |
| 3) изопреноидами;            | В – 2, 4 |
| 4) углеводами;               |          |
| 5) липидами;                 |          |
| 6) полиеновыми соединениями. |          |

**12. Высшие растения содержат каротиноиды только:**

- |                           |          |
|---------------------------|----------|
| 1) ациклические;          | А – 3, 4 |
| 2) моноциклические;       | Б – 1, 5 |
| 3) бициклические;         | В – 2, 5 |
| 4) моно- и бициклические; |          |
| 5) нециклические.         |          |

**13. Ксантофиллы характеризуются более разнообразной структурой по сравнению с каротинами в связи с тем, что они имеют:**

- а) иную структуру колец;
- б) различные группы, содержащие кислород (гидроксильные, метоксильные, кетогруппы и др.);
- в) большее число двойных связей;
- г) циклическую структуру;
- д) не имеют двойных связей.

**14. Исходным веществом для синтеза каротиноидов является:**

- а) яблочная кислота;
- б) аспарагиновая кислота;
- в) ацетат;
- г) хлорофилл *b*;
- д) щавелево-ускусная кислота.

**15. Дикомпонентными среди пигментов являются:**

- |                         |          |
|-------------------------|----------|
| 1) каротиноиды;         | A – 1, 3 |
| 2) хлорофилл <i>a</i> ; | B – 4, 5 |
| 3) хлорофилл <i>b</i> ; | B – 2, 4 |
| 4) фикобилины;          |          |
| 5) фитохромная система. |          |

**16. Фикобилины локализованы в клетках в:**

- а) хлоропластах;
- б) лейкопластах;
- в) лизосомах;
- г) фикобилиносоммах;
- д) хромопластах;
- е) других органеллах.

**17. Основная функция фикобилинов:**

- 1) выполнять роль светособирающей антенны;
- 2) обеспечивать передачу энергии на хлорофилл *a*;
- 3) участвовать в работе реакционного центра;
- 4) участвовать в фотохимических реакциях;
- 5) обеспечивать хроматическую комплементарную адаптацию водорослей в их вертикальной зональности;
- б) иная функция, не связанная с перечисленными.

A – 3, 2

B – 1, 2, 5

B – 1, 4, 5

**18. Растения имеют иные пигменты, кроме фотосинтетических, обеспечивающие основную гамму окраски растений – красного, фиолетового, синего, желтого. К этой группе можно отнести:**

- |                   |               |
|-------------------|---------------|
| 1) флавоны;       | 5) ауроны;    |
| 2) флавонолы;     | 6) халконы;   |
| 3) антоцианы;     | 7) катехины;  |
| 4) галактолипиды; | 8) фосфатиды. |

A – 1, 4, 5, 8

B – 1, 2, 3, 5, 6, 7

B – 2, 3, 4, 7



**23. Оболочка хлоропластов отличается от мембран тилакоидов:**

- 1) строением;
- 2) свойствами;
- 3) проницаемостью;
- 4) химическим составом;
- 5) ничем не отличается.

А – 1, 3, 5

Б – 2, 4, 5

В – 1, 2, 3, 4

**24. Мембраны тилакоидов содержат углеводы. Какой углеводный компонент наиболее распространен?**

- а) сахароза;
- б) глюкоза;
- в) галактоза;
- г) рибоза;
- д) ксилулоза.

**25. Углеводы, входящие в состав тилакоидной мембраны, находятся:**

- 1) в свободном виде;
- 2) ковалентно связаны с мембранными белками;
- 3) ковалентно связаны с мембранными липидами;
- 4) локализованы в гидрофобной фазе;
- 5) находятся на поверхности мембран.

А – 2, 3, 5

Б – 1, 2, 3, 4

В – 3, 4, 5

**26. В состав фотосистемы I не входит:**

- 1) светособирающий комплекс;
- 2) реакционный центр;
- 3) система фотоокисления воды;
- 4) центральный комплекс (core);
- 5) система выделения кислорода.

А – 1, 3

Б – 2, 3

В – 3, 5

**27. Фотосистема I участвует в:**

- |                         |          |
|-------------------------|----------|
| 1) синтезе АТФ;         | А – 1, 3 |
| 2) восстановлении НАДФ; | Б – 1, 2 |
| 3) фотоокислении воды;  | В – 4, 5 |
| 4) выделении кислорода; |          |
| 5) синтезе белков.      |          |

**28. Реакционные центры фотосистем включают:**

- |                 |          |
|-----------------|----------|
| 1) липиды;      | А – 1, 4 |
| 2) каротиноиды; | Б – 2, 5 |
| 3) хлорофиллы;  | В – 3, 5 |
| 4) углеводы;    |          |
| 5) полипептиды. |          |

**29. Функция фотосистемы II заключается в:**

- |                          |             |
|--------------------------|-------------|
| 1) восстановлении НАДФ;  | А – 2, 3, 5 |
| 2) фотоокислении воды;   | Б – 1, 2, 4 |
| 3) фосфорилировании АДФ; | В – 1, 4, 5 |
| 4) синтезе хлорофилла;   |             |
| 5) выделении кислорода.  |             |

**30. Светособирающие комплексы фотосистем:**

- |   |             |
|---|-------------|
| 1) обладают ферментативной активностью;     | А – 1, 3, 4 |
| 2) обладают фотохимической активностью;     | Б – 2, 3, 4 |
| 3) участвуют в поглощении световой энергии; | В – 3, 4, 5 |
| 4) участвуют в миграции энергии;            |             |
| 5) обслуживают реакционные центры.          |             |

**31. Миграция энергии в процессе фотосинтеза может происходить между такими парами:**

- |  |                   |
|--|-------------------|
| 1) каротиноиды – хлорофилл;                  | А – 1, 3, 4, 7, 8 |
| 2) хлорофилл – каротиноиды;                  | Б – 2, 4, 5, 6    |
| 3) фикоэритрин – каротиноиды;                | В – 1, 2, 5, 6, 7 |
| 4) фикоэритрин – фикоцианин;                 |                   |
| 5) фикоцианин – фикоэритрин;                 |                   |
| 6) хлорофилл <i>a</i> – хлорофилл <i>b</i> ; |                   |
| 7) хлорофилл <i>b</i> – хлорофилл <i>b</i> ; |                   |
| 8) хлорофилл <i>a</i> – хлорофилл <i>a</i> ; |                   |

**32. Миграция энергии обеспечивает:**

- 1) эффективный сбор квантов света светособирающим комплексом;
- 2) транспорт энергии к фотохимически активным пигментам;
- 3) запуск первичных реакций фотосинтеза;
- 4) ассимиляцию  $\text{CO}_2$ ;
- 5) превращение световой энергии в энергию химическую.

А – 1, 2

Б – 3, 4

В – 1, 5

**33. Светособирающий аппарат, поставляющий энергию для фотосинтеза, включает:**

- 1) реакционные центры;
- 2) ферментативные комплексы;
- 3) лабильный светособирающий комплекс, обслуживающий обе фотосистемы (ФС I и ФС II);
- 4) пигмент-белковые антенные комплексы ФС I и ФС II;
- 5) не включает вышеперечисленные компоненты.

А – 1, 5

Б – 3, 4

В – 2, 4

**34. Водоокисляющий комплекс фотосистемы II включает:**

- |                        |                    |
|------------------------|--------------------|
| 1) реакционные центры; | 4) ионы хлора;     |
| 2) полипептиды;        | 5) связанную воду; |
| 3) атомы марганца;     | 6) ионы кальция.   |

А – 1, 3, 4, 6

Б – 1, 4, 5, 6

В – 2, 3, 4, 5, 6

**35. Большинство реакционных центров фотосистемы II, их светособирающие комплексы и компоненты фотоокисления воды локализованы:**

- а) в строме;
- б) в зоне межмембранных контактов;
- в) в частях мембраны, обращенной к строме;
- г) распределены в мембране;
- д) имеют иную локализацию.

**36. Полипептиды фотосистемы I обеспечивают:**

- 1) поглощение световой энергии;
- 2) образование пигмент-белковых комплексов;
- 3) фотоокисление воды;
- 4) ориентацию пигментов светособирающего комплекса (ССК-I);
- 5) расположение в определенном порядке компонентов реакционного центра (РЦ-I).

А – 1, 3, 4

Б – 3, 4, 5

В – 2, 4, 5

**37. Реакционные центры фотосистемы I и ее светособирающие комплексы локализованы:**

- а) в водоокисляющем центре;
- б) в строме;
- в) в частях мембраны, обращенных к строме;
- г) имеют иное расположение.

**38. Бурые водоросли включают два светособирающих комплекса, куда входят следующие пигменты:**

- 1) хлорофилл *a*, хлорофилл  $c_1$  и хлорофилл  $c_2$ ;
- 2) хлорофилл *b* и хлорофилл  $c_2$ ;
- 3) хлорофилл *a* и хлорофилл *c*;
- 4) хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, хлорофилл  $c_1$ ;
- 5) хлорофилл *b* и хлорофилл  $c_1$ .

А – 1, 3

Б – 2, 4

В – 1, 5

**39. Комплекс фотосистемы I обеспечивает:**

- 1) выделение кислорода;
- 2) фотоиндуцированное окисление пластоцианина;
- 3) восстановление ферредоксина;
- 4) генерацию несимметричного трансмембранного распределения электрических зарядов;
- 5) работу водоокисляющего комплекса.

А – 2, 3, 4

Б – 2, 4, 5

В – 1, 4, 5

**40. Комплекс фотосистемы II обеспечивает:**

- 1) фотоокисление воды;
- 2) восстановление пластохинона;
- 3) окисление пластоцианина;
- 4) ассиметричное трансмембранное разделение электрических зарядов;
- 5) генерацию химического потенциала ионов водорода;
- 6) окисление ферредоксина.

А – 1, 4, 5, 6

Б – 2, 3, 5

В – 1, 2, 4, 5

**41. Первичная фотофизическая стадия фотосинтеза – это:**

- 1) фотовозбуждение молекул хлорофилла;
- 2) фотоокисление воды;
- 3) фотофосфорилирование;
- 4) миграция энергии;
- 5) иные процессы.

А – 1, 2

Б – 1, 4

В – 3, 4

**42. Растворимый в стромальной фазе хлоропласта ферредоксин обеспечивает:**

- 1) поглощение света;
- 2) работу фотосистемы II;
- 3) синтез конечных продуктов фотосинтеза;
- 4) транспорт электронов от реакционного центра фотосистемы I к НАДФ<sup>+</sup> с образованием НАДФ·Н;
- 5) окисление пластохинонов;
- 6) восстановление ферредоксин-НАДФ-оксидоредуктазы.

А – 1, 5

Б – 4, 6

В – 2, 3

**43. Восстановление НАДФ<sup>+</sup> катализирует в световых реакциях фотосинтеза фермент:**

- а) ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup>-оксидоредуктаза;
- б) ферредоксин-пластохинон-оксидоредуктаза;
- в) феррохелатаза;
- г) фосфатаза;
- д) аденилсульфатредуктаза.

**44. Взаимодействие реакционных центров фотосистемы I и фотосистемы II происходит:**

- 1) при распределении между ними поглощенной энергии;
- 2) в процессе переноса электронов;
- 3) в темновых реакциях фотосинтеза;
- 4) при ассимиляции  $\text{CO}_2$ ;
- 5) при фотоокислении воды.

А – 1, 2      Б – 2, 3      В – 4, 5

**45. В комплекс  $b_6-f$  входят:**

- 1) хлорофиллы;
- 2) высокопотенциальный Fe-S центр Риске;
- 3) цитохром  $f$ ;
- 4) молекулы цитохрома  $b_{563}$  ( $b_6$ );
- 5) полипептид с молекулярной массой 17 кДа;
- 6) каротиноиды.

А – 1, 3, 5, 6

Б – 2, 4, 5, 6

В – 2, 3, 4, 5

**46. Среди компонентов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) одно-электронными переносчиками являются:**

- 1) пластохиноны;
- 2) флавопротеин-ферредоксин-НАДФ-редуктаза;
- 3) реакционные центры фотосистем;
- 4) цитохромы;
- 5) ферредоксины.

А – 1, 3, 5

Б – 2, 4, 5

В – 3, 4, 5

**47. Какие переносчики электронов в электрон-транспортной цепи фотосинтеза включают железо:**

- |                         |                  |
|-------------------------|------------------|
| 1) пластохинон;         | 5) ферредоксин;  |
| 2) пластоцианин;        | 6) центры Риске; |
| 3) цитохром $b_{559}$ ; | 7) хлорофиллы.   |
| 4) цитохром $f$ ;       |                  |

А – 1, 4, 5, 6, 7

Б – 3, 4, 5, 6

**48. В состав каких компонентов электрон-транспортной цепи фотосинтеза входит сера?**

- 1) ферредоксина;
  - 2) центров Риске;
  - 3) цитохрома  $b_6$ ;
  - 4) пластоцианина;
  - 5) феофитина.
- А – 3, 4                      Б – 1, 2                      В – 4, 5

**49. Комплекс цитохромов  $b_6-f$  катализирует:**

- 1) транспорт электронов между двумя фотосистемами;
  - 2) образование АТФ;
  - 3) окисление пластохинона;
  - 4) восстановление пластоцианина;
  - 5) иные реакции метаболизма углерода в процессе фотосинтеза.
- А – 1, 3, 4                      Б – 2, 4, 5                      В – 3, 4, 5

**50. Какие переносчики электронного транспорта в хлоропластах способны переносить по два электрона?**

- 1) пластохиноны;
  - 2) ферредоксин;
  - 3) цитохром  $b_{559}$ ;
  - 4) флавопротеин-ферредоксин-НАДФ-редуктаза;
  - 5) реакционный центр фотосистемы II.
- А – 2, 3                      Б – 4, 5                      В – 1, 4

**51. Хлоропласты включают три разных типа ферредоксинов:**

- 1) растворимый ферредоксин, содержащий  $(2Fe-2S)^-$ , потенциал минус 0,43 В;
  - 2) ферредоксин, связанный с мембраной, с потенциалом минус 0,59 В, содержащий  $(4Fe-4S)$ ;
  - 3) ферредоксин, связанный с мембраной  $(4Fe-4S)$  с потенциалом минус 0,54 В;
  - 4) ферредоксин, переносящий протоны и электроны;
  - 5) ферредоксин, переносящий только протоны.
- А – 1, 2, 4                      Б – 3, 4, 5                      В – 1, 2, 3

**52. Какие компоненты промежуточной цепи переноса электронов между двумя фотосистемами находятся в хлоропластах в наибольшем количестве?**

- а) пластоцианин;                      в) пластохинон;      д) цитохром *f*.  
б) цитохром *b*<sub>559</sub>;                      г) цитохром *b*<sub>6</sub>;

**53. АТФ-синтетазный комплекс располагается:**

- 1) в середине тилакоидных гран;
- 2) по краям тилакоидных гран;
- 3) выступает в стромальное пространство;
- 4) только в строми;
- 5) только в мембране.

А – 1, 2, 3

Б – 1, 3, 4

В – 3, 4, 5

**54. «Фосфорилирующая единица» тилакоидной мембраны должна включать в себя ряд компонентов, обеспечивающих:**

- 1) асимметричное распределение протонов относительно мембраны;
- 2) замкнутую тилакоидную мембрану;
- 3) фотосинтетические пигменты;
- 4) комплекс сопрягающего фактора;
- 5) рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазу.

А – 1, 3, 5

Б – 2, 3, 5

В – 1, 2, 4

**55. В циклическом фотосинтетическом фосфорилировании происходит:**

- 1) фотоокисление воды;
- 2) выделение кислорода;
- 3) восстановление НАДФ<sup>+</sup>;
- 4) образование АТФ;
- 5) циклический поток электронов.

А – 1, 3

Б – 4, 5

В – 2, 5

**56. В нециклическом фотосинтетическом фосфорилировании происходит:**

- |   |             |
|---|-------------|
| 1) восстановление НАДФ <sup>+</sup> (НАДФ·Н); | А – 1, 2, 3 |
| 2) образование АТФ;                           | Б – 1, 4, 5 |
| 3) выделение кислорода;                       | В – 2, 4, 5 |
| 4) образование сахаров;                       |             |
| 5) разрушение хлорофилла.                     |             |

**57. При образовании одной молекулы АТФ необходим перенос определенного количества протонов через мембрану тилакоида. Для фотофосфорилирования в хлоропластах это соотношение составляет:**

- |                          |                          |
|--------------------------|--------------------------|
| а) 2Н <sup>+</sup> /АТФ; | г) 5Н <sup>+</sup> /АТФ; |
| б) 1Н <sup>+</sup> /АТФ; | д) 6Н <sup>+</sup> /АТФ. |
| в) 3Н <sup>+</sup> /АТФ; |                          |

**58. Кофакторами фотосинтетического окисления воды, входящими в состав «неорганического ядра» водоокисляющего комплекса, являются:**

- |                  |                       |
|------------------|-----------------------|
| 1) ионы железа;  | 4) ионы хлора;        |
| 2) ионы кальция; | 5) ионы марганца.     |
| 3) ионы магния;  |                       |
| А – 1, 2, 3      | Б – 2, 4, В – 3, 4, 5 |

**59. Основу энзиматического центра водоокисляющего комплекса составляет марганцевый кластер. В его состав входит следующее количество атомов марганца:**

- |       |       |        |       |
|-------|-------|--------|-------|
| а) 4; | б) 8; | в) 12; | г) 2. |
|-------|-------|--------|-------|

**60. Фотосинтетическое образование O<sub>2</sub>, сопровождающееся поглощением CO<sub>2</sub>, в сочетании с появившейся возможностью аэробного дыхания привело:**

- |   |                |                |
|---|----------------|----------------|
| 1) к образованию замкнутых циклов кислорода;                  |                |                |
| 2) к образованию замкнутых циклов CO <sub>2</sub> ;           |                |                |
| 3) к восполнению содержания CO <sub>2</sub> ;                 |                |                |
| 4) к восполнению содержания кислорода;                        |                |                |
| 5) к уменьшению содержания CO <sub>2</sub> и O <sub>2</sub> ; |                |                |
| 6) к уменьшению только CO <sub>2</sub> .                      |                |                |
| А – 1, 2, 5, 6  | Б – 1, 2, 3, 4 | В – 3, 4, 5, 6 |

**61. Какой из приведенных ферментов  $C_3$ -цикла фотосинтеза является наиболее распространенным белком в биоте?**

- А) триозофосфатдегидрогеназа;
- Б) фруктозобисфосфатаза;
- В) фосфорибулозокиназа;
- Г) рибулозобисфосфаткарбоксилаза;
- Д) триозофосфатизомераза.

**62. Известны ферменты, которые свойственны только восстановительному пентозофосфатному циклу ( $C_3$ -циклу). Это:**

- 1) рибозофосфатизомераза;
  - 2) рибулозофосфатэпимераза;
  - 3) рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза;
  - 4) фосфорибулозокиназа;
  - 5) седодогептулозо-1,7-бисфосфатфосфатаза.
- А – 1, 3, 4  
Б – 1, 2, 5  
В – 3, 4, 5

**63. Ключевой фермент  $C_3$ -цикла метаболизма углерода рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза включает два типа субъединиц – большие и малые. Малые субъединицы отвечают за:**

- 1) конфигурацию фермента;
  - 2) регуляторную функцию;
  - 3) аллостерические свойства фермента;
  - 4) реакции карбоксилирования;
  - 5) работу активных центров фермента.
- А – 1, 2, 3  
Б – 1, 2, 5  
В – 2, 3, 4

**64. Ключевая реакция карбоксилирования в  $C_3$ -цикле активируется:**

- а) кальцием;
- б) калием;
- в) марганцем;
- г) магнием;
- д) хлором.

**65. В восстановительной стадии  $C_3$ -цикла осуществляется ряд реакций, но только некоторые из них являются восстановительными. Это образование:**

- а) 1,3-фосфоглицериновой кислоты;
- б) 3-фосфоглицеральдегида;
- в) дигидроацетона;
- г) фруктозо-1,6-бисфосфата;
- д) фруктозо-6-фосфата.

**66. После образования триозофосфатов в стадии восстановления фосфоглицериновой кислоты остальные реакции сводятся к регенерации рибулозо-5-фосфата. Перегруппирование какого количества триозофосфатов ( $C_3$ ) необходимо для образования трех пентозофосфатов ( $C_5$ ):**

- а) двух;
- б) четырех;
- в) пяти;
- г) десяти;
- д) восьми.

**67. Очищенный белок РУБИСКО представляет собой:**

- 1) высокомолекулярный глобулярный белок;
- 2) гидрофильный белок;
- 3) гидрофобный белок;
- 4) полностью растворимый в воде;
- 5) нерастворимый в воде;
- 6) имеет катионы в составе;
- 7) не имеет катионов и других соединений.

А – 1, 2, 4, 7

Б – 2, 3, 6, 7

В – 4, 5, 6, 7

**68. Рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза состоит из больших и малых субъединиц. На долю малых субъединиц у высших растений приходится от общего состава белка данного фермента процентов:**

- а) 50–60;
- б) 35–40;
- в) 23–29;
- г) 40–15;
- д) 5–9.

**69. Истинная энергетическая эффективность фотосинтеза, учитывая затраты на фотодыхание, используемая на прирост биомассы, для  $C_3$ -растений составляет:**

- а) 15 %;
- б) 11 %;
- в) 9 %;
- г) 1–2 %;
- д) 6–7 %.

**70. Разделение процесса фотосинтеза и фотодыхания происходит на уровне:**

- а) фосфорилирования рибулозы;
- б) рибулозобисфосфаткарбоксилазы;
- в) рибулозо-1,5-бисфосфата;
- г) фиксации  $CO_2$ ;
- д) выделения  $CO_2$ .

**71. Субстратом фотодыхания является:**

- а) уксусная кислота;
- б) рибулозо-1,5-бисфосфат;
- в) гликолевая кислота;
- г) щавелево-уксусная кислота;
- д) 3-фосфоглицериновая кислота (3ФГК).

**72.  $C_4$ -путь фотосинтеза как одна из вариаций углеродного метаболизма характерна для растений:**

- а) только однодольных;
- б) только двудольных;
- в) однодольных и двудольных.

**73.  $C_4$ -растения в разных относительных количествах синтезируют яблочную и аспарагиновую кислоту, и на этом основании их разделяют на «малатные» и «аспартатные» формы. К малатным относятся:**

- 1) просо;
  - 2) амарант;
  - 3) сахарный тростник;
  - 4) сорго;
  - 5) кукуруза;
  - 6) лебеда.
- А – 1, 3, 6  
Б – 3, 4, 5  
В – 2, 5, 6

**74. По способу декарбоксилирования  $C_4$ -кислот  $C_4$ -растения делят на 3 группы. К НАДФ-малико-энзимному типу относится довольно большая группа растений. Среди них:**

- |                       |               |
|-----------------------|---------------|
| 1) кукуруза;          | 4) амарантус; |
| 2) сахарный тростник; | 5) лебеда.    |
| 3) сорго;             |               |
- А – 1, 2, 3  
Б – 3, 4, 5  
В – 1, 4, 5

**75. У  $C_4$ -растений реакция карбоксилирования локализована в:**

- а) хлоропластах клеток обкладки;
- б) строме хлоропластов клеток мезофилла;
- в) цитоплазме клеток мезофилла;
- г) цитоплазме клеток обкладки;
- д) строме хлоропластов клеток обкладки.

**76. Виды растений с  $C_4$ -метаболизмом широко представлены во всем царстве высших растений. Чем они отличаются от  $C_3$ -растений?**

- 1) способностью к высокоэффективному фотосинтезу;
  - 2) высоким температурным оптимумом для фотосинтеза;
  - 3) отсутствием заметного фотодыхания;
  - 4) специфической анатомией листа;
  - 5) насыщение  $C_4$ -фотосинтеза наступает лишь при низкой интенсивности света;
  - 6) фотосинтез  $C_4$ -растений лимитируется фотодыханием при атмосферных концентрациях  $CO_2$  и  $O_2$ .
- А – 1, 2, 5, 6  
Б – 1, 2, 3, 4  
В – 3, 4, 5, 6

**77. НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа находится в клетках мезофилла  $C_4$ -растений типов:**

- а) НАДФ-маликоэнзимного;
- б) фосфоенолпируваткарбоксикиназного;
- в) НАД-маликоэнзимного;
- г) у всех растений  $C_4$ -типа, независимо от группы;
- д) отсутствует у  $C_4$ -растений.

**78. Ключевой фермент C<sub>4</sub>-цикла фосфоенолкарбоксилаза локализован в:**

- а) митохондриях;
- б) хлоропластах;
- в) только в строме хлоропластов;
- г) цитоплазме;
- д) пероксисомах.

**79. Чем растения САМ-цикла отличаются от C<sub>4</sub>-растений?**

- 1) первичная фиксация CO<sub>2</sub> отделена от C<sub>3</sub>-цикла пространственно;
- 2) фиксация CO<sub>2</sub> не отделена от C<sub>3</sub>-цикла пространственно;
- 3) первичная фиксация CO<sub>2</sub> отделена от C<sub>3</sub>-цикла во времени;
- 4) первичная фиксация CO<sub>2</sub> не отделена от C<sub>3</sub>-цикла во времени;
- 5) имеются различия в анатомии листьев;
- 6) для них характерно фотодыхание.

А – 1, 2, 4, 6

Б – 3, 4, 5, 6

В – 2, 3, 5, 6

**80. У растений, осуществляющих фотосинтез по САМ-циклу, акцептором CO<sub>2</sub> являются:**

- 1) щавелево-уксусная кислота;
- 2) фосфоенолпировиноградная кислота;
- 3) пировиноградная кислота;
- 4) рибулозо-1,5-бисфосфат;
- 5) α-кетоглутаровая кислота.

А – 1, 3

Б – 2, 4

В – 4, 5

**81. Известны различные пути фиксации CO<sub>2</sub>: C<sub>3</sub>-, C<sub>4</sub>-, САМ-цикл. Какое количество CO<sub>2</sub> (в % от общей фиксации CO<sub>2</sub>) проходит через C<sub>4</sub>-путь?**

- а) 50 %;
- б) 10 %;
- в) 20 %;
- г) 40 %;
- д) 5 %.

**82. Не диффундируют в  $C_3$ -цикле из хлоропласта в цитоплазму:**

- 1) рибулозо-1,5-бисфосфат;
- 2) фосфоглицериновый альдегид;
- 3) седогептулозо-1,7-бисфосфат;
- 4) дегидроацетонфосфат;
- 5) эритрозо-4-фосфат.

А – 1, 3, 4

Б – 1, 2, 3

В – 3, 4, 5

**83. Сахароза, как продукт фиксации  $CO_2$  ( $C_3$ -цикл), синтезируется в:**

- а) хлоропластах;
- б) цитоплазме;
- в) вакуоли;
- г) митохондриях;
- д) клеточной стенке.

**84. Сахароза синтезируется ( $C_3$ -цикл) из:**

- а) ксилулозы;
- б) фосфоглицеринового альдегида;
- в) 3-фосфоглицериновой кислоты;
- г) дегидроацетонфосфата (ДГАФ);
- д) рибулозы.

**85. Для синтеза сахарозы при ассимиляции  $CO_2$  необходимы все указанные компоненты или только некоторые из них?**

- 1) глюкозо-1-фосфат;
- 2) дегидроацетонфосфат;
- 3) УДФ-глюкоза;
- 4) глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза;
- 5) сахарофосфатсинтаза;
- 6) сахарофосфатаза.

А – 1, 2, 3, 4, 5, 6

Б – 2, 4, 5

В – 3, 5, 6

**86. Промежуточные продукты фотосинтеза ( $C_3$ -цикла) могут быть исходными для синтеза различных веществ. Исходным соединением для синтеза липидов является:**

- а) 3-фосфоглицериновая кислота (3ФГК);
- б) фосфоглицериновый альдегид (ФГА);
- в) дегидроацетонфосфат (ДГАФ);
- г) рибоза;
- д) рибулоза.

**87. Продукты фотосинтеза ( $C_3$ -цикла) из хлоропластов в цитоплазму экспортируются в виде:**

- а) пентозофосфатов;
- б) гексозофосфатов;
- в) тетрозафосфатов;
- г) триозофосфатов;
- д) седогептулозофосфатов.

**88. Транспортной формой веществ, синтезированных в  $C_3$ -цикле фотосинтеза, является преимущественно сахароза. Это связано с тем, что:**

- 1) в проводящих пучках почти полностью отсутствует фермент инвертаза;
- 2) крахмал нерастворимый в воде;
- 3) нет запроса у отдельных органов растений на другие продукты фотосинтеза;
- 4) нет акцепторов на метаболитов фотосинтеза;
- 5) флоэмные системы не принимают иных веществ.

А – 3, 4

Б – 4, 5

В – 1, 2

**89. Фиксация CO<sub>2</sub> у фототрофных бактерий происходит следующим путем:**

- 1) окислением разнообразных неорганических и органических соединений;
- 2) в ходе восстановительного пентозофосфатного цикла;
- 3) ферредоксин-зависимого восстановительного цикла карбоновых кислот;
- 4) иным путем.

А – 1, 2, 4

Б – 1, 2, 3

В – 2, 3, 4

**90. Восстановительный цикл карбоновых кислот (ВЦКК) присущ:**

- а) эукариотам;
- б) прокариотам;
- в) эукариотам и прокариотам.

**91. Восстановительный пентозофосфатный цикл (С<sub>3</sub>-цикл) можно рассматривать как универсальный для всех автотрофных клеток, однако у фототрофных зеленых бактерий его может не быть из-за отсутствия двух ферментов:**

- 1) триозофосфатизомеразы;
- 2) альдолазы;
- 3) рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы;
- 4) фосфорибулозокиназы;
- 5) транскетолазы.

А – 3, 4

Б – 1, 2

В – 4, 5

**92. Для фотосинтеза прокариот галобактерий необходимы следующие вещества:**

- а) хлорофилл *a*;
- б) хлорофилл *b*;
- в) бактериохлорофилл;
- г) бактериородопсин;
- д) каротиноиды.

**93. Эффективным способом повышения урожая может быть:**

- а) введение в хлоропласты новых пигментов с более широким спектром поглощения;
- б) увеличение количества пигментов;
- в) применение метаболических ингибиторов;
- г) повышение количества фитогормонов;
- д) улучшение водоснабжения, минерального питания и др.

**94. Фотосинтез  $C_3$ -растений насыщается при интенсивности от полного солнечного света, равной:**

- а)  $1/4-1/5$  (части);
- б)  $1/2-1/3$ ;
- в)  $1/6-1/8$ ;
- г)  $1/7-1/10$ .

**95. Можно ли повысить продуктивность растений?**

- а) введением в геном растений набора генов фиксации диоксида углерода;
- б) введением генов расщепления воды;
- в) изменением характера взаимосвязи разных уровней организации фотосинтетического аппарата;
- г) манипуляцией с отдельными блоками фотосинтетических систем.

**96. К фоторецепторам растений, кроме фотосинтетических пигментов, относятся:**

- 1) криптохромы;
  - 2) фитохромы;
  - 3) фототропин;
  - 4) суперхром;
  - 5) фитогормоны;
  - 6) фотодинез.
- А – 1, 5, 6      Б – 1, 2, 3, 4      В – 3, 5, 6

**97. Какова роль кальция в функционировании фотосинтетических систем?**

- 1) стимулирует синтез хлорофилла;
  - 2) защищает основные пигменты от фотодеструкции;
  - 3) стабилизирует внешние мембраны хлоропластов;
  - 4) способствует образованию гран;
  - 5) является кофактором фотоокисления воды.
- А – 3, 4, 5      Б – 1, 3, 4      В – 1, 2, 5

**98. Температурный оптимум фотосинтеза для C<sub>4</sub>-растений относительно высок. Он равен:**

- а) 15–25° С;
- б) 30–45° С;
- в) 46–50° С;
- г) 50–60° С;
- д) 25–30° С.

**99. Через какие этапы (фотоорганотрофию, фотолитотрофию, фотогидротрофию) шла эволюция фотосинтеза?**

- 1) фоторедукторы;
  - 2) облигатные фотоавтотрофы;
  - 3) фотосинтетики;
  - 4) гетеротрофы;
  - 5) облигатные фотогетеротрофы;
  - 6) факультативные фотогетеротрофы.
- А – 1, 2, 4, 5, 6  
Б – 1, 2, 3, 4, 5  
В – 1, 2, 4, 5, 6

**100. Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) фотосинтеза и дыхания имеют общее происхождение. Доказательством служит:**

- 1) использование у некоторых организмов одной и той же ЭТЦ в обоих процессах;
- 2) сходство строения переносчика водорода при фотосинтезе и дыхании (пластохинон, убихинон);
- 3) совпадение ферментов митохондрий и хлоропластов;
- 4) одинаковая направленность протонного градиента в хлоропластах и митохондриях;
- 5) перенос электронов в хлоропластах и митохондриях с участием железосодержащих и медьсодержащих белков;
- 6) вхождение в ЭТЦ этих органелл хлорофилла и каротиноидов.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ И СИМВОЛОВ.....</b>	<b>3</b>
<b>ПРЕДИСЛОВИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>Ч А С Т Ь 1. ЛАБОРАТОРНЫЕ ЗАНЯТИЯ.....</b>	<b>5</b>
1. Фотосинтетические пигменты.....	5
1.1 Определение гетерогенности фонда хлорофиллов.....	5
1.2 Хроматографическое разделение пигментов. Количественное . определение основных каротиноидов хлоропластов.....	7
2. Структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата.....	11
2.1 Выделение хлоропластов.....	11
2.2 Определение хлорофилла в суспензии хлоропластов.....	14
2.3 Определение содержания и соотношения хлорофилла в пигмент- . белковых комплексах реакционных центров и светособирающих . комплексов.....	16
2.4 Определение содержания белков в хлоропластах.....	17
3. Первичные реакции фотосинтеза (световой цикл).....	
3.1 Определение фотохимической активности хлоропластов.....	20
3.2 Определение циклического фотосинтетического фосфорилирова- . ния.....	24
4. Фотосинтетическая ассимиляция CO <sub>2</sub> .....	29
4.1 Определение интенсивности фотосинтеза по накоплению органи- . ческих веществ (по углероду).....	29
4.2 Определение активности рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы... ..	33
4.3 Определение активности фосфоенолпируваткарбоксилазы (ФЕП- . карбоксилазы).....	36
<b>Ч А С Т Ь 2. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ.....</b>	<b>39</b>
1. Программа специального курса «Фотосинтез» для подготовки к . экзамену.....	38
2. Текущий контроль усвоения материала по основным разделам . курса.....	42
3. Тестовые задания для первичного контроля знаний студентов.....	63

Учебное издание

## **ФОТОСИНТЕЗ**

**Методические рекомендации  
к лабораторным занятиям,  
задания для самостоятельной работы  
и контроля знаний студентов**

Автор-составитель  
**Кахнович** Людмила Васильевна

В авторской редакции

Технический редактор *Г. М. Романчук*  
Корректор

Ответственный за выпуск *Л. В. Кахнович*

Подписано в печать 2003 . Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Таймс. Печать офсетная. Усл. печ. л. Уч.-изд л.  
Тираж Зак.

Белорусский государственный университет.  
Лицензия ЛВ № 315 от 14.07.98.  
220050, Минск, проспект Франциска Скорины, 4.

Отпечатано с оригинала-макета заказчика.  
Республиканское унитарное предприятие  
«Издательский центр Белорусского государственного университета».  
Лицензия ЛП № 461 от 14.08.2001.  
220030, Минск, ул. Красноармейская, 6