الباب الثالث

البكتيريا الممثلة للضوء

Photosynthetic bacteria

والتحولات الأيضية فى وجود الضوء

Photo metabolisms

الباب الثالث

البكتيريا الممثلة للضوء photosynthetic bacteria

والتحولات الايضية فى وجود الضوء

photo metabolisms

١٠٣ نبذة تاريخية عن التحولات الفوتوتروفية :

تسمى عملية تحويل طاقة الضوء المستخدمة فى التمثيل الضوئى إلى طاقة بيوكيمياوية فى صورة ATP أو قوة اختزالية $NAD\ (P)\ H_2$ داخل الخلايا البكتيرية الممثلة للضوء بعملية الفسفرة الضوئية photosynthesis phosphorylation وهى تشبه لحد ما التصورات الموضوعية لهذه العملية فى النباتات الراقية مع بعض الاختلافات .

فبعد ان اكتشف winogradsky سنة ١٨٨٨ قدرة بعض البكتيريا على انتاج مواد عضوية من تمثيل CO_2 فى وجود الضوء . ووصف Engelman سنة ٨٣ - ١٨٨٨ بكتريا الكبريت الارجوانية وقسم Buder سنة ١٩١٩ البكتريا الارجوانية إلى كبريتية وغير كبريتية تمثل CO_2 فى وجود الضوء . وقد أوضح Blachman سنة ١٩٠٥ ان عملية التمثيل الضوئى تنقسم إلى خطوتين الأولى تفاعل ضوئى كيمياوى والثانية تفاعل ظلام ثم جاءت النقلة الكبرى بابحاث Hill سنة ١٩٣٠ الذى فسر كيفية تفاعل الضوء ومن بعده Van Niel سنة ١٩٤١ الذى وضع المعادلتين التاليتين .

- oxygenic photosynthesis in plants, cyanobacteria

$$CO_2 + 2H_2O \xrightarrow[\text{aerobic}]{h\nu} (CH_2O)_x + H_2O + O_2 \uparrow$$

- anoxygenic photosynthesis in purple and green bacteria

$$CO_2 + 2H_2X \xrightarrow[\text{anaerobic}]{h\nu} (CH_2O)_x + H_2O + 2X$$

ثم جاءت ابحاث كالفن سنة ١٩٦٢ عن تفاعل الظلام ووضع تصور « دوره كالفن » عن ميكانيكية تثبيت ك أ٢ اوتوتروفيا واثبت أن تثبيت ك أ٢ ليس مرتبطا بتفاعل الضوء فقط والدليل على ذلك تفاعل الظلام حيث يثبت ك أ٢ اذا توافر ATP اللازم أى أن عمليتى تكوين الطاقة وتثبيت ك أ٢ منفصلتين عن بعضهما . واكمل ارنون ومساعدوه سنة ١٩٦٥ ابحاث كالفن عن الفسفرة الضوئية وميكانيكية انتقال الالكترون .

٢٠٣ تقسيم البكتيريا الممثلة للضوء :

توجد ٣ عائلات رئيسية من البكتيريا الممثلة للضوء تقسم على اساس طبيعة الصبغة وطبيعة مادة التفاعل المستخدمة .

١٠٢٠٣ بكتريا الكبريت الخضراء : Chlorobacteriaceae

- وتتضمن اجناس *Pelodictyon, Chlorobium, Chlorochromatium, Prosthecochloris, Cylindrogloea* وأهم هذه الاجناس واكثرهم دراسة *Chlorobium sp.* .
- تحتوى كل هذه البكتيريا على كلوروفيل بكتيرى ذو منحنى أد مصاص عند ٧٥٠ nm اما الكلوروفيل البكتيرى a (590 nm) يوجد بكميات قليلة .
- جنس Chlorobium يمكنه استعمال ٤ أنواع من معطيات الايدروجين غير العضوية حسب peck سنة ١٩٦٠ وهم :

أ) السلفيد sulfide حيث تتأكسد إلى سلفات

$$CO_2 + 2\,H_2S \xrightarrow{hv} (CH_2O) + 2S + H_2O$$

$$3\,CO_2 + 2S + 5H_2O \xrightarrow{hv} 3\,(CH_2O) + 2\,H_2SO_4$$

ووجد ان معدل تمثيل ك أ٢ يقل كثيرا عندما يتحول كل السلفيد (الكبريتيد) إلى كبريت وبدء تكوين الكبريتات التى تتراكم خارج الخلايا .

ب) الثيوسلفات thiosulfate حيث تتأكسد إلى سلفات

$$2\,CO_2 + Na_2S_2O_3 + 3\,H_2O \xrightarrow{hv} 2\,(CH_2O) + Na_2SO_4 + H_2SO_4$$

جـ) الايدروچين

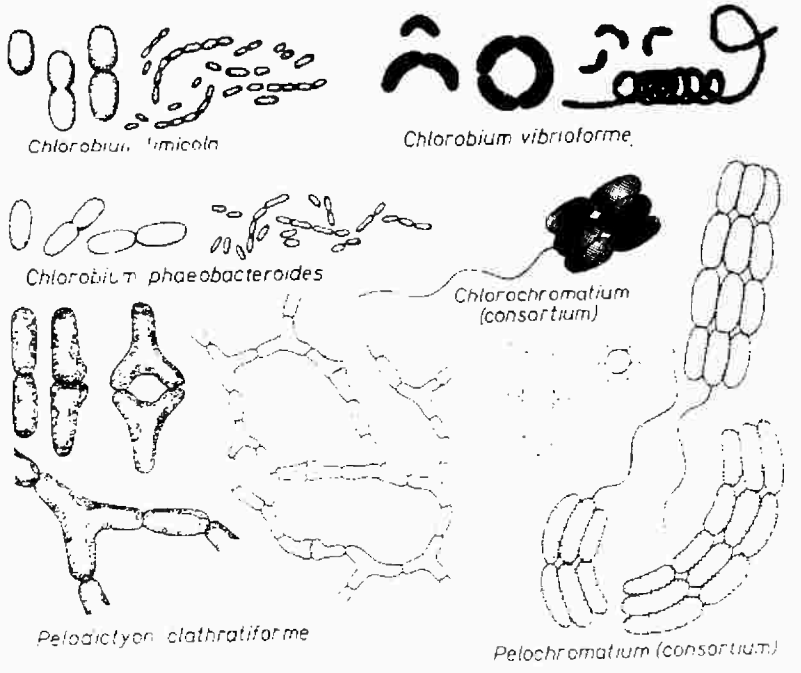
$$2\,H_2 + CO_2 \xrightarrow{hv} (CH_2O) + H_2O$$

د) المواد العضوية حيث يستطيع استخدامها تحت ظروف معينة كمعطى للايدروچين .

- الشكل المورفولـوچى : ذات اشكال مختلفة مثل الشـكل الشبكى *(Pelodictyon sp)* **والشـكل الـنجمى** (*Prosthecochloris* sp) والـشكـل الـعصـوى مـثـل *Pelochromatium* sp .

كمـــا انـها تحتـــــوى سلالات ذات صبـغات مـختـلفة مـنهـا الخضـــراء مثل *Chlorobium limicola , C. vibrioforme* والبنية مثل *C. phaerobaeteroides* .

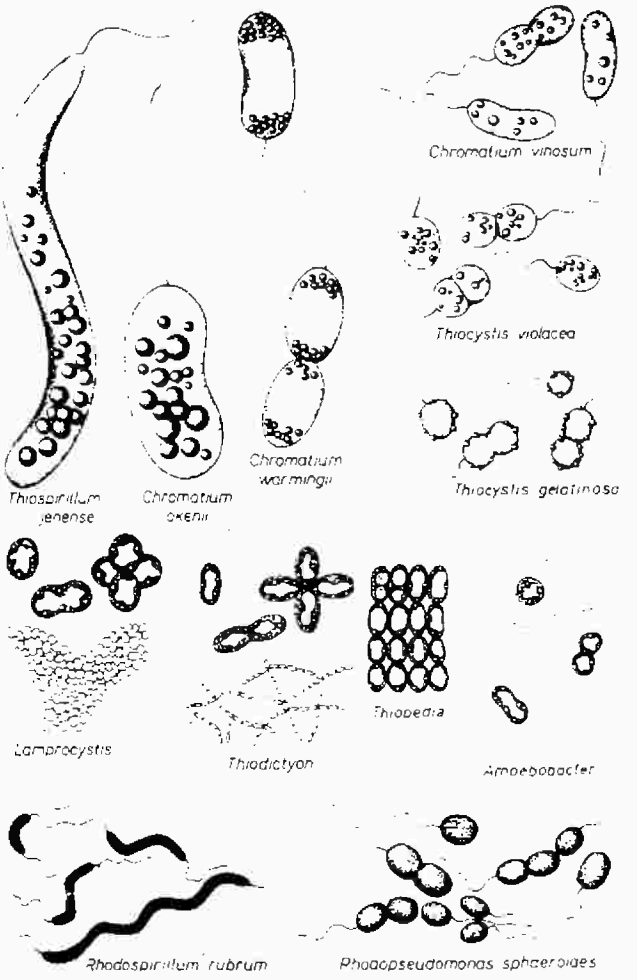
كما ان منها البكتريا الزاحفة الخيطية مثل *Chloroflexus aurantiacus* وهو ميكروب واسع الانتشار ويمثل المكون الرئيسى لمعظم الكائنات الخضراء الموجودة فى قاع الترع والينابيع الساخنة . نسبة G + C فى حمض DNA تتراوح بين ٤٨,٥ - ٥٨,١ ٪ .



شكل (٣-١) : الشكل المورفولوچى لبكتريا الكبريت الخضراء نقلا عن شليجل (١٩٨٦)

٢٠٢٠٣ بكتريا الكبريت الارجوانية : Thiorhodaceue :

- تستخدم المركبات الغير عضوية كمعطى للايدروجين مثل البكتيريا الخضراء .
- اهم اجناسها *Chromatium , Thiospirillum,* .
- نسبة G + C فى حمض DNA ٦١ - ٦٣ ٪ .
- تحتوى اساسا الكلورفيل البكتيرى a , b ومستوى ادمصاصهما عند ٨٠٠ - ٨٥٠ ، ٨٩٠ nm على الترتيب فى مجال infrared . وتحتوى كمية كبيرة من الكاروتينات ذات منحنى ادمصاص عند ٤٠٠ - ٦٠٠ nm .
- اغلبها اوتوتروفى وبعضها ينمو فى بيئة خالية من H_2S ولكن بها مصدر كربونى عضوى .
- الشكل المورفولوچى : يسهل التعرف عليها من خلال ترسيبات حبيبات الكبريت داخل خلاياها وهناك أنواع عصوية مثل *Chromatium okenii* (قطره 5 µm x طوله 20 µm) والنوع الخيطى مثل *Thiospirillum jenense* وبعضها كروية متحركة (*lamprocystis* sp) أو كروية غير متحركة (*Amoebobacter*) اما *Thiopedia* فهى مخروطية elliptical غير متحركة .



شكل (٣-٢) : الشكل المورفولوچى لبكتريا الكبريت الارجوانية والارجوانية الغير كبريتية (شليجل ١٩٨٦)

٣٠٢٠٣ البكتريا الارجوانية الغير كبريتية : Athiorhodaceae :

- أهم اجناسها , *Rhodospirillum* , *Rhodomicrobium* , *Rhodopseudomanas* *Vannielia*,
- تحتوى كلوروفيل بكترى a , b .
- تنمو لا هوائيا فى وجود الضوء وايضا هوائيا فى الظلام .

- نسبة G + C فى DNA تتفاوت حسب الجنس والنوع فمثلا .

Rhodomicrobium sp. ٦٢ - ٦٤ ٪

Rhodopseudomanas sp. ٦٧ - ٧٠ ٪

- الشكل المورفولوجى : اشكالها مختلفة اما عصوية *Rhodopseudomonas* أو خيطة *Rhodospirillum* أو متبرعمة *Rhodomicrobium vannielii* ويظل البرعم متصلا بالخلية الام بواسطة سيقان تشبه الهيفات وعندما ينفصل عند الام يتحرك بفلاچيلات منتشرة على الخلية . وهناك الخلايا شبه المستديرة مثل *Rhodocyclus purophereus* .

- وتتميز بعدم ترسيب الكبريت داخل خلاياها حيث تؤكسد H_2S مباشرة إلى سلفات بدون S كمركب وسطى .

ويمكن تلخيص اهم الفروق بين العائلات الرئيسية الثلاث فى الجدول التالى :

وجه المقارنة	الخضراء Chlorobiaceae	الكبريتية الارجوانية Thiorhodaceae	الارجوانية الغير كبريتية Athiorhodaceae
- النمو اللاهوائى (فى الضوء)	+	+	+
- النمو الهوائى (فى الظلام)	-	-	(+)
- اكسدة H_2S	+	+ (بلورات S واضحة)	(+) (مباشرة إلى SO_4)
- تخزين الكبريت	خارج الخلايا	داخل الخلايا	خارج الخلايا
- الصبغات	كلوروفيل بكتيرى a, c, d, e	B.chl. a, (b)	B.chl. a, (b)
- جهاز التمثيل	Chlorosames على الغشاء السيتوبلازمى	Thylakoids ذات فجوات تملأ الخلية	Thylakoids بجميع اشكالها من فجوات وأنابيب وطبقات
- تثبيت CO_2 بدوره كالفن	-	+	+

جدول (٣-١) : مقارنة بين العائلات الرئيسية الثلاث للبكتريا الفوتوتروفية

٣٠٣ الصبغات البكتيرية :

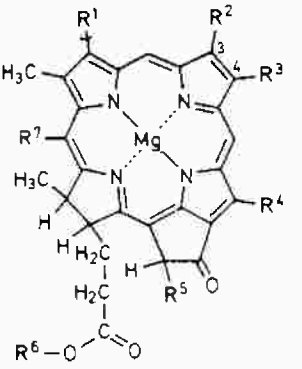
تحتوى البكتيريا الممثلة للضوء على الصبغات البكتيرية ولذا تظهر بالوان مختلفة خضراء أو خضراء مزرقة أو ارجوانية أو حمراء أو بنية فى معلقاتها وهذا الإختلاف يرجع إلى طبيعة التركيب الكمى والنوعى لها ويمكن فصل مكونات الصبغات بواسطة absorption spectra حيث يفصل الكلوروفيل عند اللون الازرق (أقل من ٤٥٠ nm) ، الاحمر وتحت الاحمر (٦٥٠ - ١١٠٠ nm) بينما الكاروتينات عند (٤٠٠ - ٥٥٠ nm) .

١٠٣٠٣ الكلوروفيل البكتيرى :

- يرجع الفرق بين انواع الكوروفيل فى الكائنات الممثلة للضوء اساسا إلى وجود أو غياب الرابطة المزدوجة بين ذرات الكربون رقم ٣ ، ٤ وإلى اختلاف المجاميع الاستبدالية على prophyrin كما يوضح ذلك الرسم التالى والجدول المرفق به (شكل ٣-٣) .

- وهذه الفروق هى المسئولة عن اختلاف درجة الادمصاص بواسطة الاسبكتروفوتومتر من كلوروفيل لآخر بل داخل الكلوروفيل الواحد . فمثلا كلوروفيل A فى الطحالب الخضراء والسيانوبكتريا يمكن فصله عند ٦٨٠ - ٦٨٥ nm اما الكلوروفيل البكتيرى e, d, c, فى بكتيريا الكبريت الخضراء ، *Chloroflexus* يفصل عند ٧٠٠ - ٧١٠ nm والكلوروفيل البكتيرى A فى معظم البكتيريا الارجوانية ما بين ٨٥٠ - ٨٩٠ nm اما الكلوروفيل البكتيرى b الموجود فى *Rhodopseudomenas* فيدمص عند ١٠٢٠ - ١٠٣٥ nm .

اما داخل الكلوروفيل البكتيرى a (B. chl.a) فى البكتريا الارجوانية فيلاحظ منحنى امتصاصه عند ٤ مراحل (spectralforms) هى 890 - 870 , B 850 , B 820 , B 800 . وترجع هذه الفروق فى الامتصاص بسبب نوع الرابطة ومكان جزئ الكلوروفيل البكتيرى فى معقد البروتين والصبغة .



Pigment	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
Chloro phyll a	$-CH=CH_2$	$-CH_3$	$-CH_2-CH_3$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Phytol	$-H$
Bacterio chlorophyll a	$O=C(CH_3)$	$-CH_3$*	$-CH_2-CH_3$*	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Phytol or Geranyl-geraniol	$-H$
Bacterio-chlorophyll b	$O=C(CH_3)$	$-CH_3$*	$=C(CH_3)-H$*	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)$	Phytol	$-H$
Bacterio chlorophyll c	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ / $-C_3H_7$ / $-i-C_4H_9$	$-C_2H_5$ / $-CH_3$	$-H$	Farnesol	$-CH_3$
Bacterio chlorophyll d	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ / $-C_3H_7$ / $-i-C_4H_9$	$-C_2H_5$ / $-CH_3$	$-H$	Farnesol	$-H$
Bacterio chlorophyll e	$-CH(OH)-CH_3$	$-CHO$	$-C_2H_5$ / $-C_3H_7$ / $-i-C_4H_9$	$-C_2H_5$	$-H$	Farnesol	$-CH_3$

* Saturated bond between C-3 and C-4

شكل (٣-٣) : الفرق بين الكلوروفيل a ، الكلوروفيل البكتيرى a, b, c, d, e

(نقلا عن schlegel سنة ١٩٨٦)

٢٠٣٠٣ الكاروتينات :

- ويطلق عليها الصبغات المساعدة فى عملية التمثيل الضوئى وتمتص عند ٤٥٠ - ٥٥٠ nm وهى غالب مركبات ليفاتية (C_{40}) مع مجاميع هيدروكسى اوميثوكسى .
- واهمية الكاروتينات ترجع إلى :

١ - تدخل فى Antenne Pigment وهى قنوات توصيل الطاقة إلى الكلوروفيل .

٢- تقوم بحماية الكلوروفيل من الاكسدة الضوئية ولذا الطفرات الخالية من الكاروتينات فى البكتريا الارجوانية تنمو فى الضوء الضعيف جدا بينما الاضاءة الكثيفة تقتلها حيث تقوم الكاروتينات بالتخلص من الطاقة الزائدة وتحولها إلى حرارة .

٣٠٣٠٣ اماكن وجود الصبغات :

توجد الصبغات فى البكتريا الارجوانية فى اوعية او حوامل مرتبطة على الغشاء السيتوبلازمى الداخلى (Thylakoids) وهى على شكل كريات صغيرة أو اشكال انبوبية ولذا يأخذ الغشاء اشكالا مختلفة مثل lamellar stacks , Tubules , Vesiceles ويطلق على هذه الاوعيه والتى يمكن الحصول عليها بتكسير الخلايا بواسطة الطرد المركزى اسم chro-matophors اما فى البكتيريا الخضراء فإن الصبغات توجد مرتبطة بنوعين منفصلين من انسجة الخلية .

١ - Antenne pegments على الكروموسومات .

٢ - Reaction center pegment على الغشاء السيتوبلازمى

اما فى النبات فيوجد الكلوروفيل فى البلاستيدات

٤٠٣٠٣ تنظيم وتخليق الصبغات وحواملها :

يتوقف ذلك على ظروف النمو المختلفة واهمها :

١ - قوة الاضاءة : يزداد محتوى الصبغات فى الخلية بتقليل شدة الاضاءة اثناء النمو .

٢ - وجود الاكسجين (للانواع الاختيارية) : حيث وجد ان الاضاءه القوية ووجود الاكسجين يقلل تخليق الكلوروفيل البكتيرى والكاروتينات ويؤثر ايضا على الانزيمات الداخلة فى عملية تخليقهم .

٣ - عدد Vesicelcs , Tubules ليس له تأثير على محتوى الصبغات سواء بالزيادة أو بالنقص لان تركيز الصبغة ثابت .

وانسب الظروف لعملية تخليق الصبغات أو حواملها هو الاضاءة الضعيفة مع ظروف لا هوائية .

٤٠٣ اسس عملية الفسفرة الضوئية :

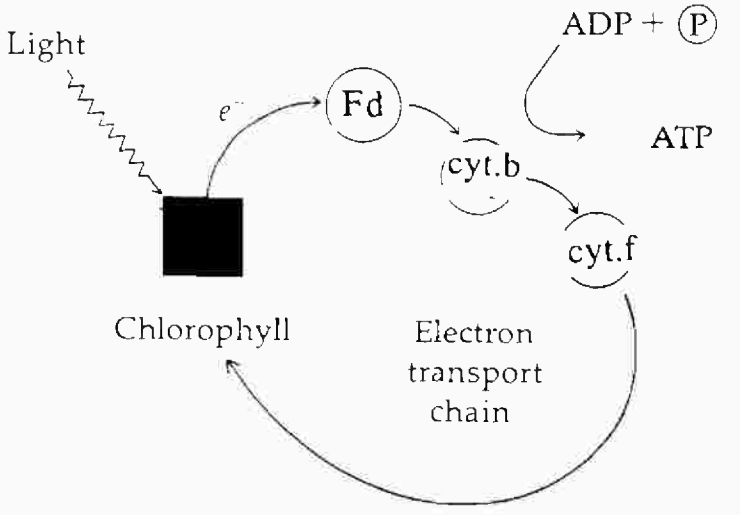
اولاً : انتاج الطاقة (تكوين ATP) بمساعدة الضوء light quanta وهو ما يعرف بعملية photo phosphorylation .

ثانياً : وجود العامل المختزل reductent القادر على اختزال المركبات الغنية بالطاقة إلى مكونات داخل الخلية .

ولقد توصلت ابحاث ارنون ومساعدة فى السبعينات إلى نوعين مختلفين من الفسفرة الضوئية هما الفسفرة الحلقية والفسفرة الغير حلقية .

١٠٤٠٣ الفسفرة الضوئية الحلقية : Cyclic photophosphorylation :

ويسود هذا النوع فى النباتات وقليل من البكتريا حيث يتم تخليق ATP ومصدر الالكترون هنا ذاتى ويتم على مرحلة واحدة هى etectron translocation . وتعرف ذلك cyclic chain , cyclic flow كما بالرسم .



شكل (٣-٤) : الانسياب الحلقى وعملية الفسفرة الحلقية فى النباتات

- والفرق الاساسى بين الفسفرة الحلقية والتنفس هو ان الالكترونات المتكونة فى الاول لا تطرد ولا تخرج من الدورة وانما تدخل فى الكلوروفيل فتحدث له عملية اثارة بواسطة كوانتم الضوء ثم ينتقل مرة اخرى إلى الفيرودكسين اما فى التنفس فتطرد وتستقبل فى

النهايـة بواسـطة مستقـبل الالكترون (الاكسجـين أو بـدائله) والفيـرودكسين كما سبق وصـفه (راجع بـند ٢-٤-٢) بـروتين يحتوى على حـديد ذو جهد اكسدة واختـزال غير عـادى (0.342V -) وهـو يماثـل جهد الكترود الايدروجين عنـد 7.0 pH (H_2 / H^+ - 0.42V) يرحـل عنه زوج من الالكترونـات ويـدخلا سلسلة تفاعلات الاكسـدة والاختزال (سيتوكروم b ، f) قبل ان يعود إلى الـكلوروفيل مرة اخرى فى النهاية .

- وقد امكن معمليا اثـبات تخليق ٢ جزئ من ATP خلال هذا التفـاعل وحيث ان دورة كالفـن تحتاج لـ $NADH.H^+$ لهذا فإن الاعـتماد الاكبر يكـون على الفسفـرة الغير حلقية .

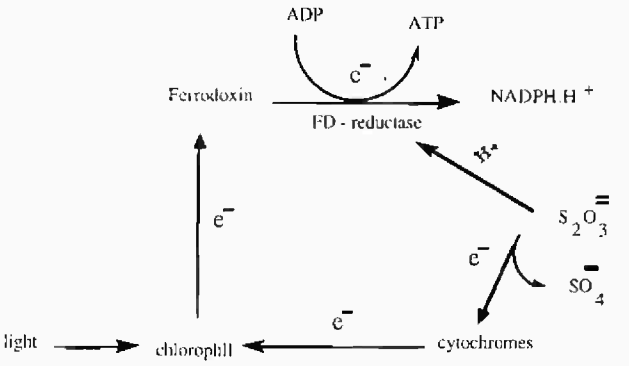
٢٠٤٠٣ الفسفرة الضوئية الغير حلقيه : Non cyclic photophosphorylation :

يعتقـد Van Niel سنة ١٩٣١ ان التحلـيل الضوئى photolysis للمـاء شائـع فـى كل الكائنـات الممثلة للضوء وعلـى رأسها النبات وأن $[OH]^-$ المنفرد يتحـول انزيميا إلى جـزئ اكـسجين فى النبـات أو يختزل إلى الماء فـى البكتيريـا بواسطة أى معطـى الكترون خـارجى .

العالـم Losada وآخرون سنة ١٩٦١ لاحـظ ان التحليل الضـوئـى للمـاء موجود فى النباتات ولا يلاحظ فى البكتريا وافترض ان الايدروجين الموجود يختزل المرافق NAD^+ .

اما العالم Ogata وآخرون سنة ١٩٥٩ فإقترح ان اختزال NAD^+ الغير مرتبط بوجود الضوء فى البكتيريا يتأثر بوجود معطى الكترون خارجى .

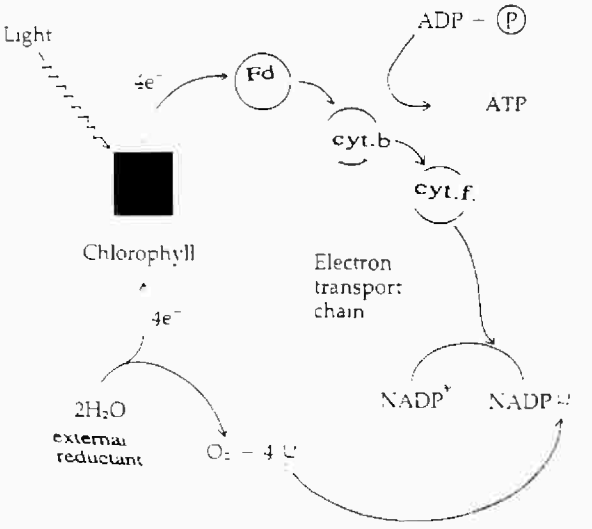
وطبقـا لهـذه الابحـاث فإن الالكترونات الناتجة من الكلوروفيل المنـشط بكوانتم الضوء فـى عـملية التمـثيل الضوئى فـى النبات يـحتاج اليه فـى أ) انتاج ATP ب) اختـزال NAD^+ والبـروتـون اللازم للاخـير ينتـج من التحليل الضـوئى photolysis للماء امـا فـى البكتريـا فالالكترونـات المنبعثة مـن الكلـوروفيل تدخل ايـضا فـى تـكوين ATP واختـزال NAD^+ ولـكن البروتون اللازم للاخـير يأتـى مـن عامل مختزل خارجـى (H_2S مثلا) كما يلاحظ فى الشكل التالى .



شكل (٣-٥) : اختزال $NADP^+$ فى بكتريا الكبريت بواسطة معطى ايدروجين خارجى

ويلاحظ ان الانزيم الذى يلامس التفاعل هو ferredoxin - $NADP^+$ reductase (EC 1.6.99.4) ويحل محله فى بعض الميكروبات NADP- cyt. C_{552} reductase (EC 1.6. 2.4) or pyridine nucleotide transhydrogenase (EC 1.6.1.1)

كما يلاحظ ان الانسياب الحلقى للالكترونات لا يحدث اطلاقا تحت الظروف المختزلة القوية وفى وجود معطى الكترون خارجى بعكس الفسفرة الغير حلقية والتى يطلق عليها بـ open e - transport chain والهامة فى تكوين القوة المختزلة $NAD\ (P)H.H^+$ اللازمة لتثبيت ك أ من خلال دورة كالفن .



شكل (٣-٦) : الفسفرة الغير حلقية وتكوين القوة المختزلة فى بكتريا الكبريت اللاهوائية

ويوضح الرسم السابق الآتى

١) تكوين جزئ واحد ATP عند cyclic side .

٢) اعتماد تكويـن القوة المختزلة على الانسيـاب الغير حلقى (المفتوح) لـلالكترون حيث يعمل NAD (P) كمستقبل نهائى له والبروتون يأتى من المعطى الخارجى .

ولقد اظهـرت الدراسات الحاجة إلى وجود نـظامين مختلفـين للصبغات الماصـة للضوء (system I , system II) أحدهما ينشط الالـكترونات القادمة من التحلل الـضوئى للماء والآخر يمتص وينشط الالكترونات القادمة من العامل المختزل الخارجى .

وجه المقارنة	Pigment system II	Pigment system I
طول الموجه	قصير أقل من nm ٧٠٠	طويل أكبر من nm ٧٣٠
معطى الالكترون	$Chla_{II}$ (P 680)	$Chla_{I}$ (P 700)
مستقبل الالكترون	X 320	X (Fe - S protein)

٥٠٣عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف هوائية :

Oxygenic Photosynthesis

وتلاحظ فى النباتات وجميع الطحالب ماعدا الخضراء المزرقه وتتم فى حوامل الصبغات التى تـوجد فى الكلـوروبلاست فى النـباتات الراقـية والطحالـب الخضراء أو على الـغشاء السيتوبلازمى فى الـطحالب الخضراء المزرقة (Cyanobacteria) وحوامل الصبغات فجوات محكمة الـغلق رقيقة الجدار تحتـوى كلوروفيل a , b , c , d والكاروتينـات وكذا حوامل الالكترونـــات والانزيمـات واغلب جزئيـات الكلوروفيـل (٩٩,٥ ٪) والصبغات المساعـدة

(الكاروتين ، phycobiliprotein) تستخدم لامتصاص الضوء وتوجيه الطاقة ولذا يعبر عنها او تعرف Antenne pigment system فقط جزء صغير جدا من كلوروفيل A تعمل كمركز تفاعل reaction center والذى يحتمل ان تحدث عليه تفاعل الاكسدة والاختزال الكيموضوئى photochemical redox reaction وهو يستقبل الطاقة الموجهة اليه من Antenne pigment . والكاروتينات لها وظيفة حماية الكلوروفيل .

وعملية التمثيل الضوئى تحت الظروف الهوائية تحتوى على نظامى الصبغات المذكورين آنفا وهذا يسبب تفاعلين ضوئيين احدهما حلقى والاخر مفتوح .

التفاعل الأول :

حيث تنشط $chl.a_I$ (P 700) بواسطة طاقة الضوء الممتصة مما يسبب اكسدته وتحوله إلى $chla_I^+$ وذلك على حساب اختزال المستقبل [X] وهو عادة بروتين يحتوى على الحديد والكبريت ذو جهد اختزالى ما بين 420 to - 530 mV - والذى ينقل البروتون بدوره إلى الفيرودكسين ومنه إلى $NADP^+$ أو أى مستقبلات اخرى اما الالكترون فينقل من [X] عبر البلاستوكينون ، السيتوكروم ، البلاستوسيانين إلى $chla_I^+$ فيما يعرف بالدورة الحلقية .

التفاعل الثانى :

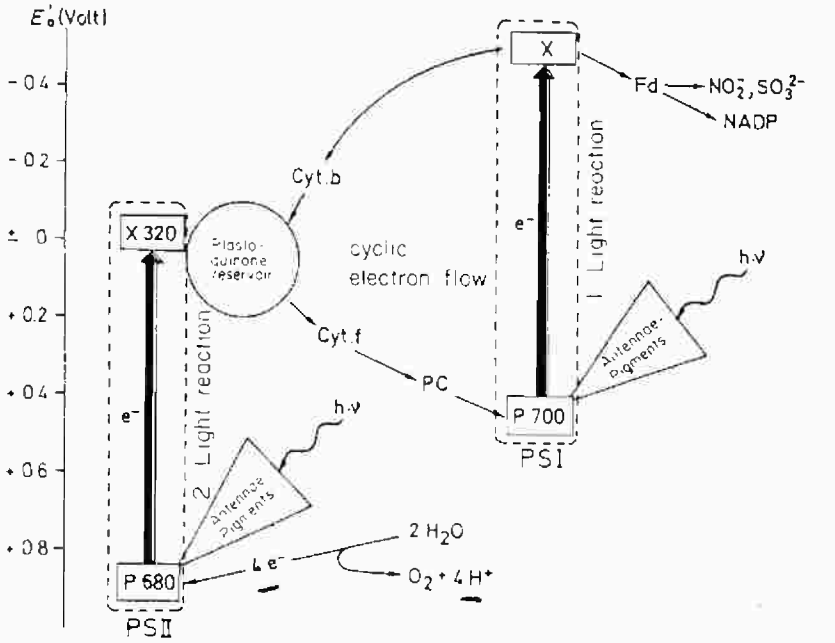
فإن $chla_{II}$ (p 680) الخاص بـ pigment sys. II يثار بواسطة الطاقة الضوئية الممتصة . وهذا التنشيط او الاثارة يؤدى لفقد الكترونات تستقبل بواسطة (X320) والقوة الاختزالية المتكونة ضعيفة (E_0 ~OmV) لا تكفى لتكوين $NADPH_2$ ويتم تعويض الالكترونات التى تفقد من $chla_{II}$ بواسطة مصدر خارجى (الناتجة من انفصال جزئى الماء)

$$2\,H_2O \longrightarrow O_2 + 4\,H+ + 4\,e^-$$

ولهذا فانتقال الالكترون ذو نظام مفتوح .

ويتم ربط التفاعلين ببعضهما من خلال سلسلة انتقال الالكترونات فى وجود البلاستوكينون كمخزن للالكترونات التى يأخذها من X 320 من التفاعل الثانى ليختزل بها $chla_I$ من التفاعل الاول والرسم التالى والمعروف باسم Zizack Scheme يوضح كيفية حدوث التفاعل وانتقال الالكترون وهو محصلة تجارب واختبارات عديدة باستخدام light flash spectrophotometry وبواسطة معطيات ومستقبلات الكترونية صناعية ومثبطات

متخصصة آخذا فى الاعتبار جهد الاكسدة والاختزال للصبغات منفردة وكذا حوامل نقل الالكترون والتتابع الزمنى لعمليات الاكسدة والاختزال بالرغم من انه لا يعطى معلومات عن اماكن وجود هذه المواد على الغشاء .



P 700, Chl a_I (electron donor of pigment system I (PSI));
P680, Chl a_{II} (electron donor of pigment system II (PSII));
X320, electron acceptor of PSII;
X, electron acceptor of PSI, an iron-sulphur protein;
Fd, ferredoxin;
PC, plastocyanine;
Cyt, cytochrome. The photochemical reaction centres are ringed by broken line. See text for explanations.

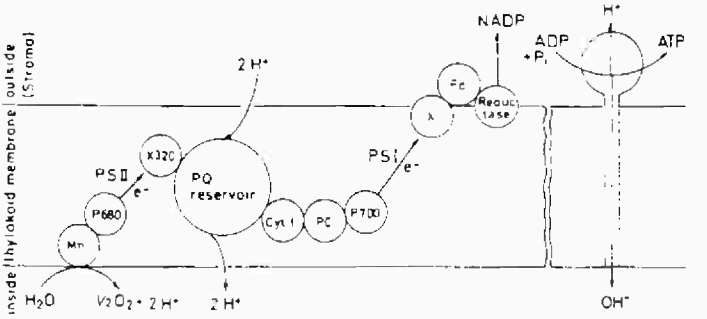
شكل (٣-٧) : عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف هوائية (Z - Scheme)

(نقلا عن schlegel سنة ١٩٨٦)

اماكن وجود حوامل الالكترونات على الغشاء وحدوث تدرج البروتون

امكن باستخدام المضادات الحيوية والنظمة الاكسدة والاختزال الصناعية تحديد بعضها مثل FD - NADP reductase , ferredoxin على غشاء thylakoids من الناحية الخارجية والرسم التالى يضع تصورا لعملية انتقال الالكترونات e - transport system فى آغشية التمثيل الضوئى وكيفية حدوث تدرج البروتون proton gradient وتكوين ATP والقوة

المختزلة NADP ويجب ان نفرق بينه وبين الرسم السابق الخاص بـ redox potenial diagram .



The components are arranged in the membrane so as to produce a vectorial electron flow through the membrane.
Mn, manganese complex;
PC, plastocyanine;
PQ, plastoquinone;
Cyt. f, cytochrome f;
Fd, ferredoxin;
X, iron–sulphur protein.
See Fig. 12.14 for further explanations.

شكل (٣-٨) : نظام انتقال الالكترون عبر اغشية thylakoid فى البكتريا الفوتوتروفية

اثبات حدوث تدرج البروتون :

امكن بواسطة تعريض معلق من الكلوروبلاست او thylakoid المحطمة إلى شدة اضاءة معينة ملاحظة أن pH تزداد فى البيئة الخارجية يعقبها عند ابعاد الاضاءة انخفاض pH أى أن الاضاءة تسبب انتقال البروتون ألى Thylakoid وبمعنى آخر أن طاقة الضوء تستخدم لخلق تدرج البروتون عبر غشاء thylakoid . وقد لوحظ قديما انه يمكن تخليق ATP فى معلقات thylakoid فى الظلام إذا زاد pH البيئة من ٤ إلى ٨ مما أكد التصور الـ Chemiosmotic لتحولات الطاقة .

وعلى ضوء ذلك - وكما يتضح من الرسم السابق - افترض ان انتقال الكترون واحد فى تفاعلين ضوئيين يؤدى لانتقال ٢ بروتون من الماء خلال غشاء thylakoid إلى $NADP^+$ على الناحية الخارجية مما يؤدى لاختزال الاخير وتكوين شحنة على الغشاء وهذا يسبب جهد تدرج البروتون الذى يسبب تخليق ATP فى وجود ATP synthase .

٦٠٣ التمثيل الضوئى تحت ظروف لا هوائية :

Anoxygenic photosynthesis

يختلف فى بعض النقاط عما سبق مناقشته فى مثيله الهوائى فيمايلى :

١) يوجد تفاعل ضوئى واحد ينتج عنه انتقال الكترون حلقى cyclic e-transport .

٢) الالكترونات اللازمة لاختزال NAD^+ لا تأتى من انفصال جزئ المـاء وهذا يعتمد على وجود مواد خارجية فى البيئة (e - donar) .

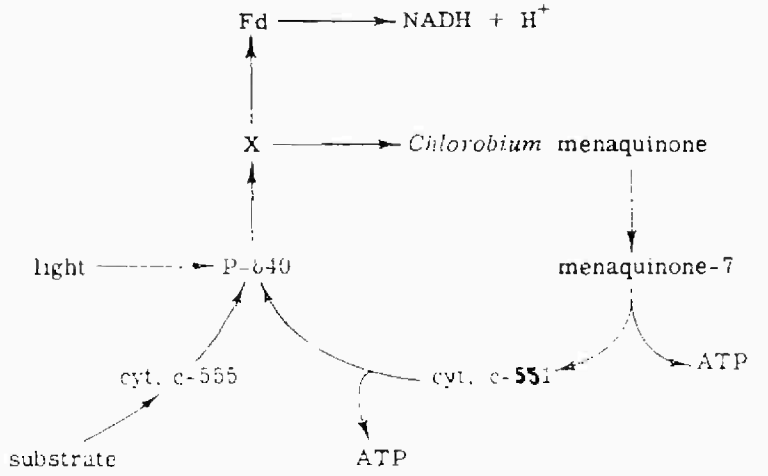
٣) عدم انطلاق اكسجين .

٤) لا يوجـد open chain فى انتقـال الالكترونات من المـعطى إلى NAD^+ فى بكتريا الكبريت الخضراء .

٥) $NADH.H^+$ تتكـون بوضوح فى تفـاعل الظلام فى خـطوة اشتقـاق الطاقة العـكسى لانتقال الالكترون .

١٠٦٠٣ التمثيل الضوئى اللاهوائى فى بكتريا الكبريت الخضراء : Chlorobacteriaceae

- يحتوى على كلـوروفيل بكتيرى مميز لهذه العـائلة يسمى chlorobium chlorophyll وهو يعتبر معطى الالكترون لمركز التفاعل الفوتوكيمياوى (X = p 840) .
- يحتوى الفيرودكـسين ويشبه حد كبير مثيلـه الموجود فى البكتريا اللاهوائيـة الغير ممثلة للضوء ودورة هو اختزال NAD^+ للحصول على القوة الاختـزالية اللازمة لتثبت CO_2 من خلال دوره كالفن .
- يحتوى quinone وقد عزل ٣ انواع منه mena quinonc7, polar menaquinone, chlorobium quinonc .
- يوجد ٣ أنواع من سيتوكروم C هم C_{551} ، C_{553} ، C_{555} ولا يوجد بروتوهيم فى الخلايا ولذا لا يوجـد cyt.b . يشبه cyt. C_{555} تماماً cyt.c فى الطحالب المعـروف بـــ (cyt.f) ولكن مميز عن cyt.c فى البكتريا الارجوانية غير الكبريتيه . أما cyt C_{553} يبـدو أنـــه يتفاعل كـ sulfide - cyt.c - reductase امـا بالـنسبة لـ cyt. C_{551} يتفـاعل كـ Thiosulfate - cyt.c reductase .

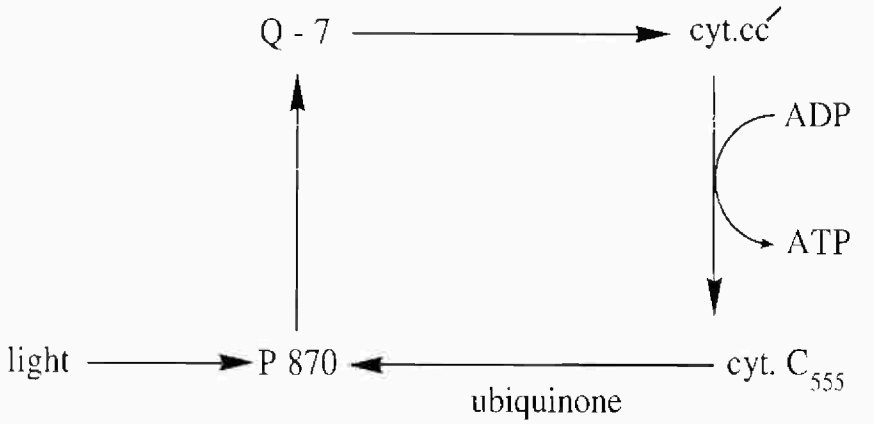


شكل (٣-٩) : ميكانيكية انتقال الالكترون فى عملية التمثيل الضوئى فى بكتريا الكبريت الخضراء ومنه يظهر الدور الذى تلعبه السيتوكرومات والكينونات فى التفاعل

- ولكن تظل مشكلة مستقبل الالكترونات غير واضحة المعالم حيث لم يعرف بعد إذا كان [x] هو الفيرودكسين أو أى مركب وسطى آخر غير معلوم .
- كمية الطاقة الناتجة مساوية للمتحصل عليها من التفاعل الاول فى cyanobacteria السابق شرحه ولهذا تعتبر عملية التمثيل الضوئى فى البكتريا الخضراء حالة وسط بين النباتات الراقية والسيانوبكتريا من ناحية والبكتريا الارجوانية من ناحية اخرى .

٢٠٦٠٣ التمثيل الضوئى فى بكتريا الكبريت الارجوانية : Thiorhodaceae

- مركز التفاعل النشط للكلوروفيل البكتيرى عند P 870 ، أو P 890 فى *(Chromatium)* .
- عُزل سيتوكروم C_{553} وهو يشبه فى خواصه cyt.f المعزول من الطحالب وايضا C_{555} يشبه المعزول من البكتريا الخضراء *(Chlorobium sP)* ويرتبط مع P 890 الذى يتأكسد على حساب اختزال المرافق الانزيمى Q - 7 كما عزل ايضا سيتوكروم CC الذى يكّون معقد مع مركز التفاعل P870 ومسببا flow system التالى .



حيث تمثل الكينونات (Q - 7) المستقبل الاول للالكترون من مركز التفاعل الفوتوكيمياوى P 870 وهذه الخطوة هامة فى مقارنتها مع بكتريا الكبريت السابقة حيث مستقبل الالكترون الاول فيها menaquinone ووجود ubiquinone فى *Chromatium* يمثل ارتباط او تقارب مع Athiorhodaceae (الكبريتية غير الارجوانية) .

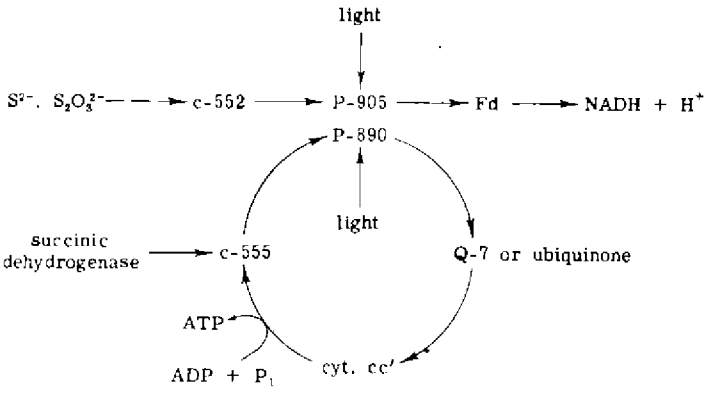
- اقترح Cusanovich & Komen سنة ١٩٦٨ وجود ٣ انظمة لانسياب الالكترونات حسب جهد الأكسده والاختزال redox potential :

أ) النظام الحلقى وذلك فى الظروف المؤكسدة القوية مع كثافة ضوئية ضعيفة ويستخدم P 890 كمركز تفاعل فوتوكيمياوى .

ب) النظام المفتوح فى الظروف المختزلة القوية مع كثافة ضوئية عالية ويستخدم cyt. c_{552} مع P 905 كمركز تفاعل . ويلاحظ تحت الظروف اللاهوائية فقط . ويمكن استبدال نظام الفسفرة المفتوح أو الغير حلقى تدريجيا بالفسفرة المؤكسدة عندما تسود الظروف الهوائية وتصبح O_2 هو مستقبل الالكترون النهائى .

جـ) تتضمن كلا النظامين وذلك فى المرحلة الانتقالية transition region لجهد الاكسدة والاختزال (ما بين الظروف المؤكسدة والمختزلة) .

وافضل فسفرة ضوئية يمكن التحصل عليها عند 50 - 100 mV .



شكل (٣-١٠) : نظامى انتقال الالكترون فى Thiorhodaceae (الحلقى والمفتوح) طبقا لتصور Cusanovich & Komen سنة ١٩٦٨

- ايضا ظروف نمو الكائن تلعب دورا فى تحديد نظام الفسفرة : ففى حالة النمو اوتوتروفيا (مصدر الالكترون S_2O_3 , S , H_2S) فإن القوة المختزلة $NADH.H^+$ اللازمة لتثبيت CO_2 يتكون من دورة « P 905 المفتوح » اما عند تنمية الخلايا هتيروتروفيا (مع السكسينات) وعدم الاحتياج لقوة اختزالية كبيرة فالدورة الغالية هى « P 890 الحلقية » .

عموما فإن نظام انتقال الالكترون فى thiorhodaceue مازال به الكثير من النقد مثل وجود مركزى تفاعل وهل فعلا الفيرودكسين ، ubiquinone هما مستقبلا الالكترون الاولى فى النظامين الغير حلقى والحلقى على الترتيب .

٣٠٦٠٣ التمثيل الضوئى اللاهوائى فى البكتريا الارجوانية الغير كبريتية:

Athiorhodaceae

- بعكس العائلتين السابقتين فإن افرادها يمكنها النمو بوضوح لاهوائيا فى الضوء (photosynthesis) أو هوائيا فى الظلام (Oxidative respiration) ولهذا يستطيع الكائن التحول switch من الفسفرة الضوئية إلى الفسفرة المؤكسدة . ولهذا فمن المتوقع وجود كلا نظامى انتقال الالكترون (الحلقى والمفتوح) فى كائنات هذه العائلة .

- مركز التفاعل الكيموضوئى هو P - 890 فى *Rhodospirillum rubrum* او P - 870 *Rhodopseudomonas spheroides* .
- يحتوى جميع افرادها على ubiquinone وليس menaquinone والسائد هو U Q - 10 أو ما يسمى rhodoquinone .
- يفترض وجود مستقبل الكترونات غير معلوم [X] الذى يختزل بواسطة P - 870 وهو غالبا بروتين يحتوى الحديد والكبريت .
- بالاضافة إلى U Q يوجد ferredoxin وعدد من السيتوكرومات من النوع C (C_{550} ، C_{553} ، C_{558}) وايضا النوع b . والنوع C_{553} يتأكسد اساسا عند اضاءة منخفضة بينما النوعين الآخرين يتأكسدان غالبا عند اضاءة عالية .
- فى حالة الفسفرة الضوئية الحلقية لوحظ اختزال NAD^+ فقط فى وجود السكسينات أو الفورمات كمصدر خارجى للالكترونات ولهذا يعتقد انهما تتدخلان فى نقل الالكترون من photoreducing site إلى photooxidizing site للكروماتوفور chromatophore .
- وجود cyt. C_2 يعتبر كنقطة تفرع له القدرة على التفاعل مع كل من نظام التمثيل الضوئى (لا هوائى - ضوء) ونظام التنفس (هوائى - ظلام) .

وقد يطلق عليه NADPH - cyt.c reductase ويعتبر NADH oxidase جزء منه فى الخلايا النامية فى الضوء أو الظلام .

- دور الاكسجين : فى غياب معطى الكترون خارجى مثل السكسينات فإن الفسفرة الحلقية تثبط بشدة بالاكسجين فإذا حدث التغير من الظروف الهوائية إلى اللاهوائية سريعا فإن NAD^+ يختزل اما العكس من اللاهوائية إلى الهوائية يتأكسد $NADH.H^+$.

٧٠٣ التحولات الايضية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء : photometabolisms

- عملية التحول الايضى للمواد الغير عضوية أو العضوية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء مليئة بعلامات الاستفهام فبعضها يثبت ك أ عن طريق دوره كالفن والبعض الآخر يمكن لاهوائيا وفى الظلام بواسطة التخمر لبعض المواد المخزنة كمصدر H_2 الحصول على الطاقة اللازمة لمعيشتها ولكنها غير كافية لحد ما .

- البكتريا الفوتوتروفيه تعتمد علـى معطى أيدروچين خارجى مثل جزئ الايدروچين نفسه أو كبريـتيد الايدروچين أو الـكبريت المعدنـى أو الثيوسلـفات أو الاحماض العـضوية والكحولات والسكريات واحيانا بعض المركبـات الحلقية وستعرض فى الجزء القادم من هذا الباب لدراسة التحولات المختلفة لهذه المواد بواسطة البكتريا الممثلة للضوء .

١٠٧٠٣ تحولات الايدروجين والكبريت الغير عضوى :

Hydrogen and Inorganic sulfer photometabolism

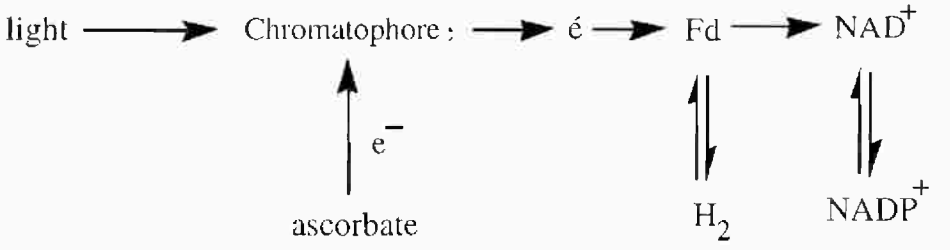
يوجد تفاعلان محددان فى البكتريا الممثلة للضوء .

١) اختزال H_2 ضوئيا .   ٢) اختزال ك أ٢

وكلا التفاعلين يحدثان فى *Chlorobium* ، *Chromatium* ، *Rhodobacterium* .

اختزال H_2

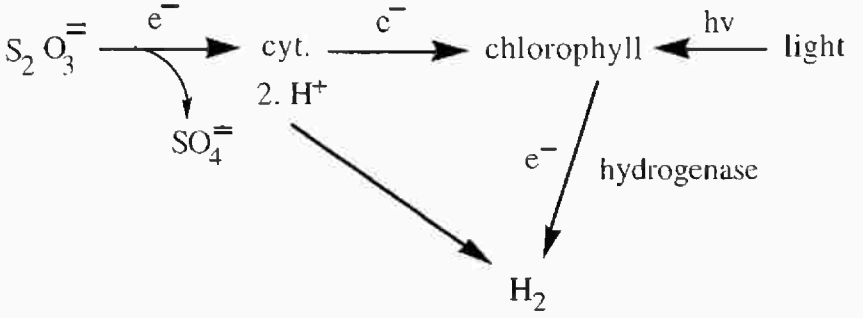
فى حالة عـمل جزئ الايدروچين كمعطـى للالكترون فإنه يـستعمل كعامل مـختزل لـ NAD^+ . وتُظهر مستخلصات الميكروبات السابقة أن اختزال NAD^+ مرتبط بالفيرودكسين Fd والانزيم المسئول عن هذه الخطوة هو Fd - NAD reductase . ومعدل اختزال NAD^+ يعادل ٣ أو ٤ مرات اختزال $NADP^+$ مما يدل على أن NAD^+ هو الاساس - ولكن ليس الوحيد - كمستقبل للالكترون .



شكل (٣ - ١١) : نظام انسياب الالكترون المؤدى لاختزال نيوكليوتيد البيريدين فى البكتريا الممثلة للضوء (Hoare and Hoare, 1969)

ويحتاج اختزال H_2 ضوئيا لمعطى الكـترون غير عضوى مثل H_2S أو الثيوسلفات . وثبت ان السيـتوكروم فى *Chromatium* sp. يختزل بواسـطة الثيوسلفات وبالتـالى يعمل

كمنفذ دخول للالكترونات وبمساعدة الضوء وانزيم hydrogenase يختزل الايدروچين بالاضافة إلى اكسده الثيوسلفات إلى سلفات كما بالشكل التالى (٣ - ١٢) .



شكل (٣ - ١٢) : ميكانيكية انتقال الالكترون للاختزال الضوئى للايدروچين فى وجود الثيوسلفات

اختزال ك أ :

- لا يعتمد اختزال ك أ بجزئ الايدروچين (كمعطى للالكترون) على الضوء . فعند كثافة ضوئية منخفضة يكون معدل الاختزال فى وجود H_2 أو الثيوسلفات متعادلا وكلما زادت كثافة الضوء كلما قل تثبيت ك أ بجزئ الايدروچين .
- ويثبط انطلاق الايدروچين بواسطة غاز النتروچين أو ايون الامونيا وايضا معطيات الالكترون العضوية بينما لايثبط تثبيت (اختزال) ك أ بهم طالما ان الثيوسلفات هى معطى الالكترون مما يدل على ان انسياب الالكترون إلى H_2 هو الذى يثبط وليس انسياب الالكترون إلى اختزال ك أ عبر NAD (P) ويمكن التعبير عن تسلسل التفاعل كالتالى :

$$S_2O_3^{2-} + 2\,OH^- \longrightarrow S + SO_4^{2-} + 2\,e^- + H_2O$$

$$S + 8\,OH^- \longrightarrow SO_4^{2-} + 6\,e^- + 4\,H_2O$$

$$10\,H_2O \longrightarrow 10\,H^+ + 10\,OH^-$$

$$S_2O_3^{2-} + 5\,H_2O \longrightarrow 2\,SO_4^{2-} + 8\,2^- + 10\,H^+$$

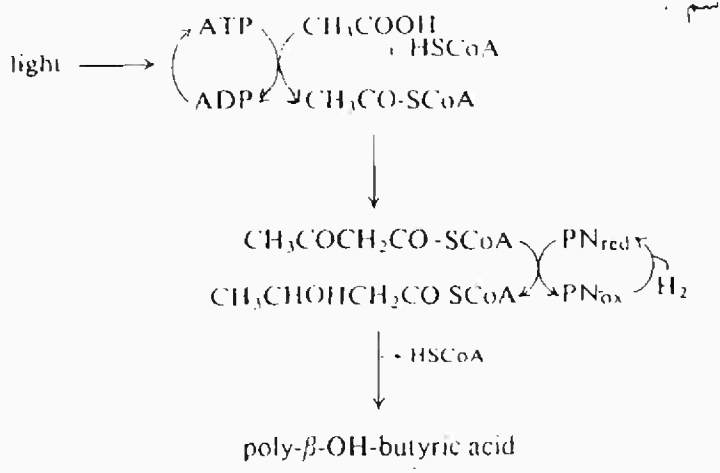
٢٠٧٠٣ تحولات الاسيتات : Acetate photometabolism

يستطيع ميكروب ***Rhodospirillum rubrum*** تمثيل الاسيتات مباشرة فى غياب ك أ حيث تتحول الاسيتات إلى استيل كوانزيم A بواسطة انزيم منشط وفى وجود استيل ادينالات كمركب وسطى كما فى التفاعل التالى :

$$\text{a cetyl} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{a cetyl adenylate} + \text{pyrophosph.}$$

$$\text{a cetyl adenylate} + \text{CoA} \rightleftharpoons \text{a cetyl} \sim \text{CoA} + \text{AMP}$$

وباتحاد جزئين من الاستيل كوانزيم A يتكون اكسا لواسيتيل - كوانزيم A ومنه إلى المركب الرئيسى للتفاعل وهو بيتا هيدروكس بيوتيرات poly β - hydroxybutrate ولان هذا التفاعل اختزالى فإن بعض الاسيتات لابد أن تتأكسد لتكوين القوة الاختزالية المطلوبة . ولهذا فإن تحول الاسيتات إلى البولمر يتنافس مع تثبيت ك أ على القوة المختزلة الميسرة المحدودة . وفى غياب ك أ فإن البولى هيدروكس بيوترات تتكون كمركب احتياطى reserve product كما بالرسم .



شكل (٣ - ١٣) : ميكانيكية تحول الاسيتات إلى البولى هيدروكس بيوترات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*

وأهمية تكوين البولمر ترجع لعدم قدره الخلية البكترية على تكوين الاحماض الدهنية بدون احداث بعض الاضرار damage لها وهذه الاحماض متعادلة وتقوم يعمل

ضغط اسموزى داخلى وتساعد الخلية فى تكوين قوة اختزالية احتياطية تستخدم فى تثبيت CO_2 .

والانزيمان الرئيسيان لتكوين وتحلل البولمر تم عزلهما وتعريفهما :

أ) ٣ - هيدروكسى بيوترات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.30) وهو يلامس التفاعل a :

$$\text{acetoacetate} + NADH.H^+ \underset{b}{\overset{a}{\rightleftharpoons}} \text{3 - hydroxybutrate} + NAD^+$$

ب) ٣- هيدروكسى اسيد ديهيدروجينيز الذى يلامس التفاعل العكسى (b) من البولمر إلى الاستيواستيات

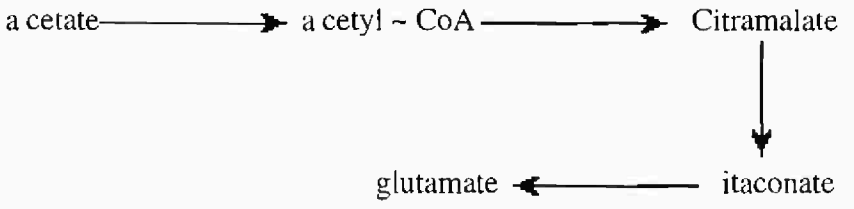
تحت الظروف اللاهوائية وفى وجود الضوء يستطيع ميكروب *Rhodopseudomonas spheroides* تحويل الاسيتات عبر المالات الى بيروفات

$$\text{A cetate} \longrightarrow \text{a cetyl ~ CoA} \longrightarrow \text{malate} \longrightarrow \text{pyruvate}$$

والانزيم المستخدم فى تخليق المالات هو malate synthase (EC 4.1.3.2)

وهذه الميكانيكية تسمح للكائن ان يتجنب استعمال انزيم citrate synthase (EC 4.1.3.7) الذى يلعب دورا تنظيميا فى ميكروب *Rhodops. Capsulate*

- هناك طرق pathways اخرى لتحولات الاستيات بواسطة البكتريا الممثلة للضوء مثل *Chromatum* ، *Rhodosp. rubrum* مع تكوين Citramalate ، وربما الجلوتامات كناتج نهائى .



٣٠٧٠٣ تحولات البيروفات : Pyruvate photometabolism

البيروفات يمكن ان تتحول ايضا بواسطة البكتريا الممثلة للضوء فى عدة محاور فمثلا :

- ميكروب *Rhodospirillum rubrum* بجانب تحويله للبيروفات فإنه يستخدمها لتخليق مكونات الخلية فقد وجود طاقة ضوء كافية ومادة التفاعل حيث يُكَون مواد مخزنه مثل البولى هيدروكس بيوترات والبولى سكريدات . والمركب الأول يفضل ظروف لاهوائية ضوئية مع جزئ الايدروجين بينما الثانى يفضل الظروف اللاهوائية مع جزئ النتروجين لتكوينه ويلعب انزيم pyruvate kinase (EC 2.7.1.40) دورا تنظيما فى عملية التخليق .

- عزل انزيم pyruvate carboxylase المرتبط بـ Co - A (EC 6.4.1.1) من ميكروب *Rhodopseudomonas spheroides* يشير إلى إمكانية نزع ك أ من البيروفات لتكوين استييل كواتزيم A والاستيات .

- اثناء النمو اللاهوائى وفى الظلام يستطيع *Rhodospirillum rubrum* تخليق الهيدروكسى بيروترات من تخمير البيروفات بمساعدة انزيم pyruvate ferredoxin - oxidoreductase (EC 1.2.7.1) أو انزيم pyruvate formate lyase وهذه الانزيمات هى المسئولة عن الناتج النهائى استيات ، H_2 , Co_2 او البولى هيدروكسى بيوترات . ولهذا تكوين H_2 لا يعتمد على الضوء فى وجود الظلام والظروف اللاهوائية .

- كما وجد أن البيروفات يمكن ان تتحول فى وجود الضوء إلى البروبيونات والفورمات والايدروجين .

٤٠٧٠٣ تحولات الفورمات : Formate photometabolism

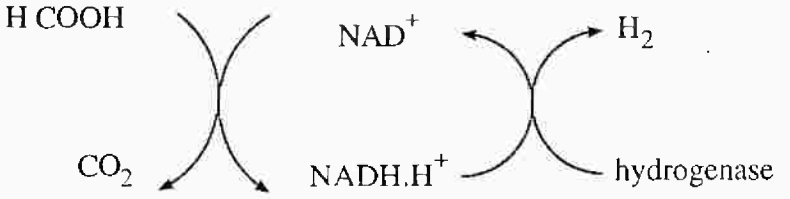
- يستطيع ميكروب Rhodopseudomonas *palustris* استخدام الفورمات كمصدر كربون عضوى واكثر من ٩٦ ٪ من كربون الفورمات يتخلق فى وجود الضوء photo assimilation من تثبيت ك أ اوتوتروفيا .

- يحتوى الكائن على نظام انزيمى يطلق عليه formic hydrogenlyase الذى يحتوى على انزيمين

a - soluble formic hydrogenase

b - particulate hydrogenase

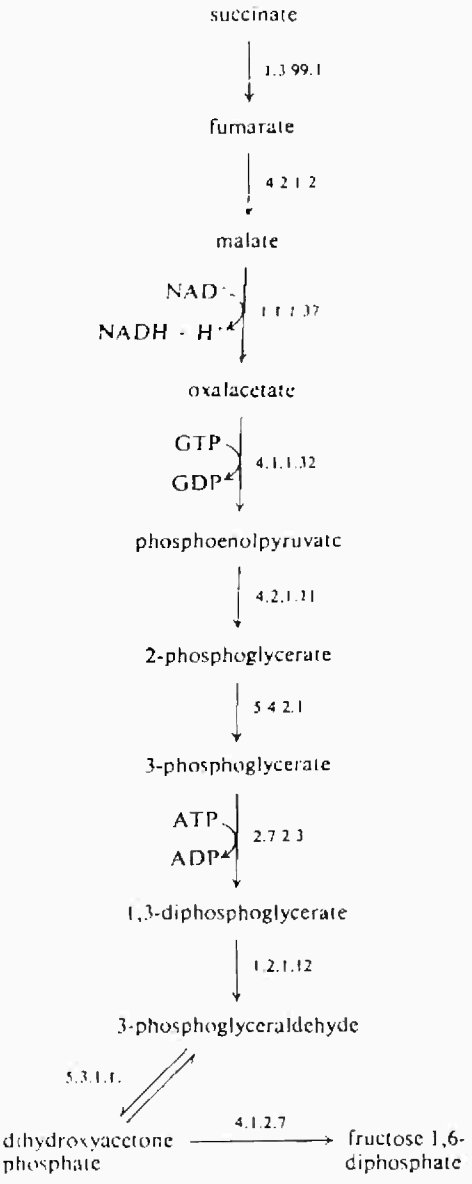
وحامل الالكترون بين الانزيمين هو NAD^+ وجهد الاكسدة والاختزال بين $HCOOH / CO_2$ حوالى 400 m V - ولهذا لا يحتاج هذا التفاعل لطاقة الضوء .



ولا يوجد Ferredoxin ولهذا فإن تحولات الفورمات تشبه تماما ما يحدث فى *Pseudomanos oxalaticus* .

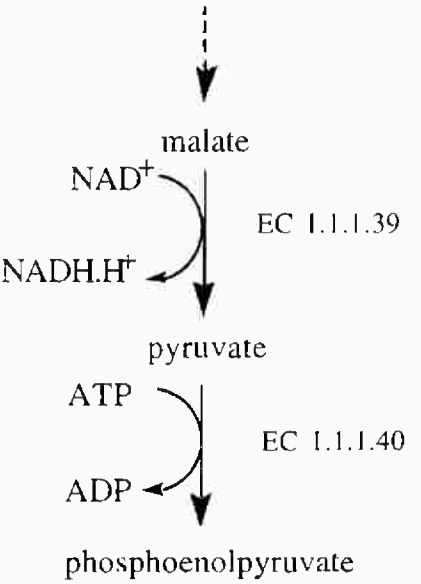
٥٠٧٠٣ تحولات السكسينات : Succinate photometabolism

- التحولات الحيوية للسكسينات فى وجود الضوء أكثر تعقيدا من الاستيات أو البيروفات أو البيوترات .
- السكسينات كمعطى للايدروجين ينقل الالكترونات عند جهد اقل من جهد $NAD^+ / NADH.H^+$ ولهذا لا تستطيع الالكترونات اختزال NAD^+ مباشرة ومن هنا جاءت أهمية الصبغات البكتيرية القادرة على اختزال NAD^+ فى وجود الضوء لتغطى هذه المشكلة . وهذا الاختزال يقابل باكسدة السكسينات أو (FMN) المختزل ليعطى ناتجا نهائيا هو البولى سكريدات عبر تكوين الفيومارات والاوكسالواستيات ويستمر عكس دورة EMP كما بالرسم التالى (شكل ٣ - ١٤) .



شكل (٣-١٤) : التحولات الايضية للسكسينات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*

وبمقارنة هذه الدورة بتحولات الاستيات ودوره الكربوهيدرات فى *Chromatium* sp نرى تشابها بين النظامين. فالتجارب السابقة عن تخمر البروبيونات فى ميكروب *R. rubrum* تبين ان البيروفات هو المركب الوسطى بدلا من الاكسالواستيات والفرق بين تحولات السكسينات والبروبيونات هى خطوة اضافة ك أ Carboxylation - الاضافية - التى تحول البروبيونات إلى سكسينات حيث CoA ~ propionyl هو المادة التى يضاف إليها ك أ اما CoA - methy malonyl هو ناتج التفاعل ويمكن توضيح هذا التحور فى الرسم السابق كالتالى :



وحيث ان البيروفات هو المركب الوسطى - بدلا من الاكسالواستيات - فلابد للتفاعل ان يتغير فى جزء منه حيث تتحول المالات إلى البيروفات بملامسة انزيم malate dehydrogenase كما ان الفوسفواينول تتكون بمساعدة pyruvate kinase .

- لذا يمكن افتراض ان المواد المتحولة إلى وحدات acetyl بدون تكوين البيروفات مثل الاستيات والبيوترات تنتج غالبا البولى هيدروكسى بيوترات بينما المواد التى تتحول إلى بيروفات مصحوبة بتخليق قوة اختزالية مثل السكسينات والمالات والبروبيونات تنتج غالبا بولى سكريدات بطريقة مشابهة لتثبيت ك أ عبر دورة كالفن .

٦٠٧٠٣ تحولات الاسيتون والكحولات :

Acetone and Alcohol photometabolism

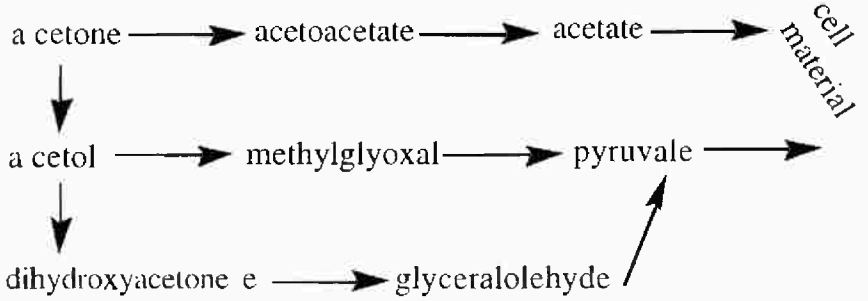
يستطيع عدد من البكتريا الارجوانية غير الكبريتية استعمال الكحولات المختلفة لاختزال (او تثبيت) ك أ ضوئيا وبعض الانواع متخصص فى الكحولات الأولية والبعض الآخر فى الكحولات الثانوية . والتفاعل العام كمايلى :

$$CH_3 . CH_2 OH + 3 H_2O \longrightarrow 2 CO_2 + 12 H^+$$

$$3 CO_2 + 12 H^+ \longrightarrow 3 (CH_2O) + 3 H_2O$$

$$CH_3 . CH_2 CH_2 OH + 5H_2C \longrightarrow 3 CO_2 + 18 H^+$$

كما ان الاسيتون يتحول بواسطة *Rhodopseudomonas gelatinosa* لتكوين مركبات لا تدخل فى تكوين الخلية ولا تتراكم كمواد وسطية حيث يتكثف الاسيتون مع CO_2 لتكوين الاستيواسيتات أو يتحول الاسيتون إلى مشتقاته الكحولية أو الالدهيديه كما بالرسم .



ويبدو ان عملية الفسفرة الضوئية تثبط بقوة بواسطة هذة الكحولات الاليفاتية المنخفضة .

٧٠٧٠٣ تحولات الميثان : methane photometabolism

قدم Wertlieb & Vishniac, 1967 اول دليل على أن سلالة *Rhodopseudomonas gelatinosa* تستطيع استخدام الميثان كمصدر وحيد للالكترون ويمكنه ادخال كربون الميثان إلى مادة الخلية وكذا اكسدة الميثان إلى ك أ وإن كانت المعلومات عن هذه الدورة غير كافية حتى الآن .

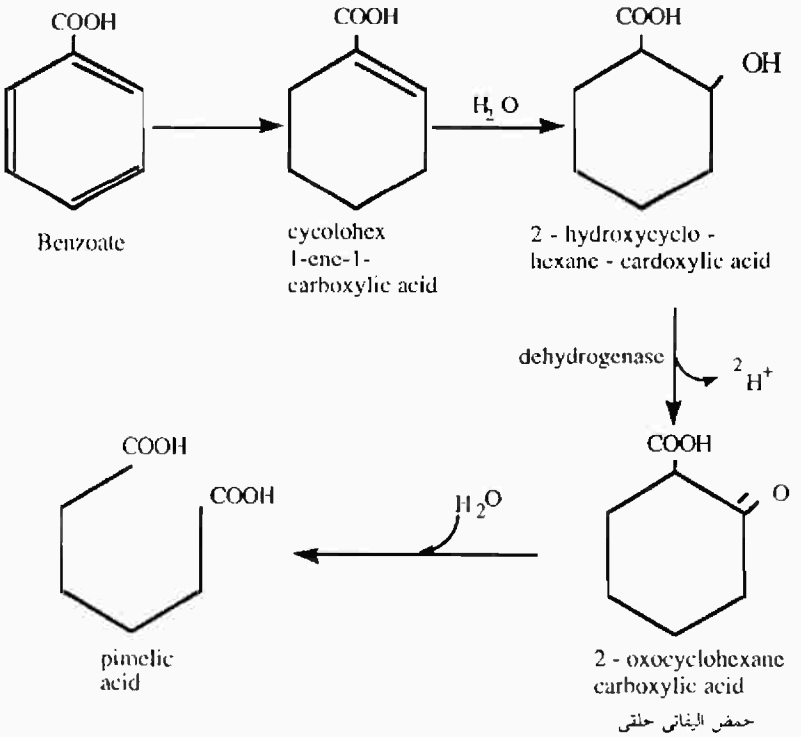
٣-٧-٨ تحولات المركبات الحلقيه :

Aromatic Compounds photometabolism

تشير ابحاث Duttan & Evans 1969 على ميكروب *Rhodopseudomanas palustris* انه يستطيع تمثيل المركبات الحلقية هوائيا ولا هوائيا . فمثلا البنزوات يمكن تحويلها تحت الظروف اللاهوائية مع الضوء ولكن ليس هوائيا فى الظلام بينما الهيدروكسى بنزوات يمكن تحويلها تحت كلا الظرفين .

ويسلك الميكروب السابق فى الظروف الهوائية والظلام نفس طريق pseuodmanads حيث يتحول الهيدروكسى بنزوات إلى بروتوكاتيكوات protocatechuate الذى يتحول فى النهاية إلى 8 - carboxy - α - hydroxy - muconic semialdehyde ووجود الاكسجين ضرورى لهذا التفاعل .

والفرق الرئيسى بين الطريق الهوائى واللاهوائى هو اختزال المركب الاروماتى إلى حمض الينانى حلقى أولا قبل تكسير الحلقة تحت الظروف اللاهوائية كما بالرسم التالى .



٨٠٣ دوره حمض الستريك لا هوائيا وتثبيت ك أ٢ اختزاليا :

Anaerobic TCA cycle and reductive CO_2 fixition

إن التحولات الايضية بمصاحبة الضوء للمواد العضوية المذكورة سابقا تشير إلى أن دور ATP ذو اتجاهين :

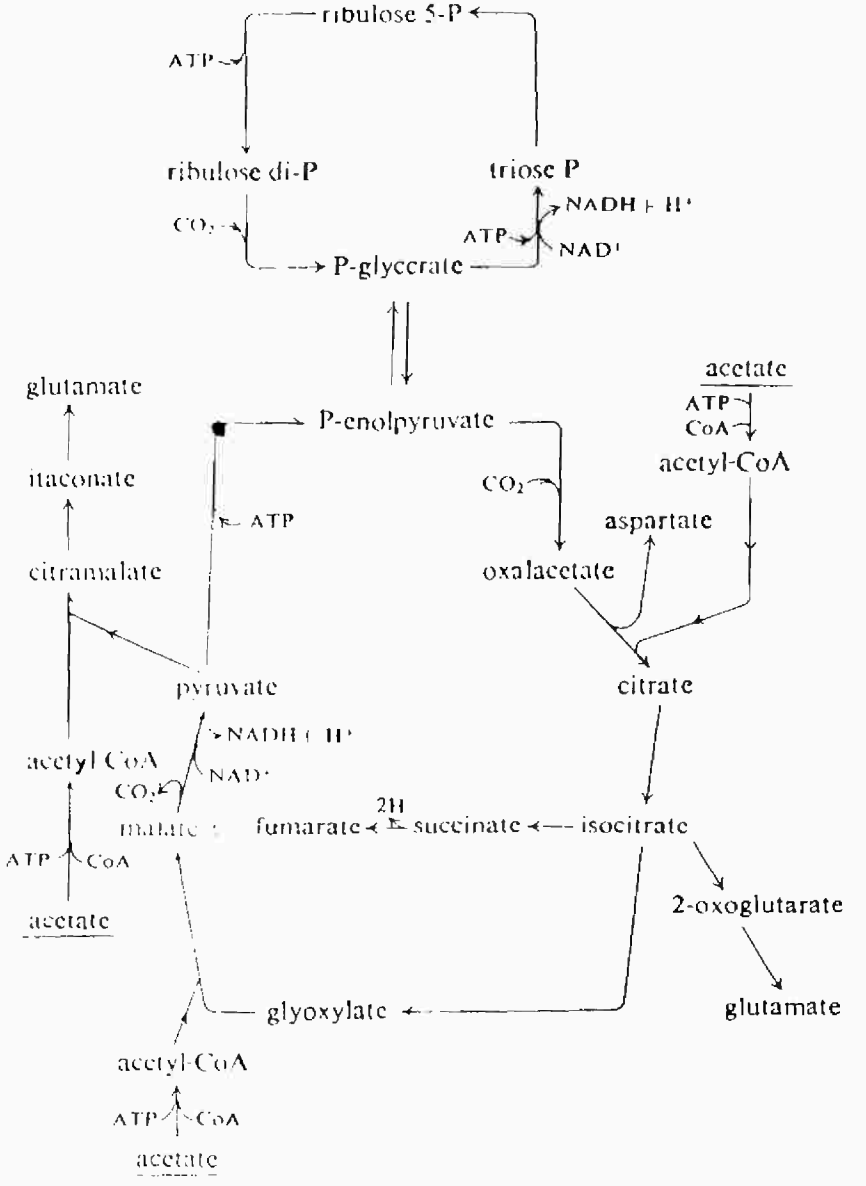
- تنشيط مادة التفاعل substrate activation لتثبيت ك أ٢ خلال دوره كالفن .
- تكوين مصدر كربونى نشط مثل acetyl~ CoA للدخول فى الدورات المختلفة .

وكما ذكر سابقا ان التحولات الايضية للاحماض الرباعية الكربون مثل المالات والسكسينات تكون كمية كافية من ك أ٢ ، H_2 . وحيث ان معظم الانزيمات المشاركة فى دورة TCA قد درست فى مستخلصات الخلايا واصبحت معروفه فإنه يعتقد أن البكتيريا الممثلة للضوء تستعمل لعمليات البناء بها جزء من دورة TCA وهى glyoxylate cycle (كما يوضح ذلك شكل ٣ - ١٥ التالى) .

وفى ميكروب *Rhodospirillum palustris* تم تحديد احد الدورات بدءا من الفا - اكسوجلوتارات عبر السكسينات ، الفورمات ، المالات ، البيروفات ، وحتى مادة الخلية (الرسم التالى) وهذه التحولات تحدث لا هوائيا فى الضوء أو هوائيا فى الظلام ولكن مع وجود فوارق كبيرة فى معدل استهلاك الاكسجين ويمكن تلخيص كمية الاكسجين المستهلك بالمولر لكل مول من مادة التفاعل فى الجدول التالى :

substrale	light	dark
2-oxoglutrate	1.13	1.51
succinate	0.73	1.42
malate	0.42	0.92

ومعدل الاستهلاك العالى للاكسجين فى تفاعل الظلام يؤدى إلى معدل عالى لتكوين ك أ٢ .



شكل (٣-١٥) : التحولات الايضية فى وجود بكتريا : *Rhodospirillium rubrum, Chromatium sp.* , للاسيتات والاحماض ثنائية الكربوكسيل

واكسدة الستريك ، الايزوستريك ، اكسوجلوتارات . لاتشاهد فى الخلايا الحية ولكن فى الخلايا الجافة أو المستخلص الخالى من الخلايا . ويعتقد ان صعوبة النفاذيه هى السبب فى ذلك أكثر من فقد الانزيم .

- كما يبدو ان تحولات الاحماض العضوية تحت الظروف اللاهوائية خلال دوره حمض الستريك افضل فى الظلام اما الظروف (ضوء - لاهوائية) فيبدو انها تشوش نوعا ما على نشاط دورة TCA ولكن هذا التأثير (السلبى) قد يكون غير مباشر بواسطة تحفيز انشقاق السترات الذى يزيد مستوى ATP . $NADH.H^+$ فى الخلية .

- وحديثا اكتشف انزيم يستطيع استخدام ferredoxin مباشرة كحامل مختزل فى تمثيل ك أ وهو pyruvate Synthase (EC 1.2.7.1) حيث يلامس التخليق المختزل للبيروفات من CO_2 , a cetyl - CoA وبنفس الاسلوب يمكن تمثيل السكسينات ، ك أ

$$Acetyl \sim CoA + CO_2 + Fd_{red} \rightleftharpoons pyruvate + CoA + Fd_{ox}$$

- البكتريا الارجوانية النامية فوتوهتيروتروفيا تحوى مستوى عالى من انزيم الريبولوز ١-٥ داى فوسفات كربوكسيليز ribulose 1.5 biphosphale corboxylase (EC 4.1.139) وهو يعتبر الانزيم الاهم (key) لتثبيت ك أ فى دوره كالفن - كما سيرد ذلك بالتفصيل فى الباب السابع - وبالتالى يمكنها تثبيت ك أ اوتوتروفيا .

* والخلاصة ان البكتريا الممثلة للضوء تعتمد على مادة التفاعل فى عملية تثبيت ك أ فمثلا lithotrophic photobacteria يستطيع استخدام دوره البنتوز بينما organotrophic photobacteria تفضل دوره الاحماض الكربوكسيلية المختزلة .

٩٠٣ تثبيت N_2 ضوئيا : Photochemical N_2- fixation

تستطيع البكتريا الارجوانية والخضراء تثبيت النتروجين تحت ظروف لاهوائية فى وجود الضوء نتيجة حركة الالكترون بطريقة غير حلقيه non cyclic حيث يمر الالكترون من مادة التفاعل عبر السيتوكروم إلى الكلوروفيل (كما وصف فى انطلاق H_2 سابقا) . والدليل على ذلك امكن الحصول عليه بالخلايا المُعلّمه illuminated cells وباستخدام الثيوسلفات أو السكسينات كمادة تفاعل ومعطى للالكترون . ويزداد تمثيل النتروجين بقوة بإضافه ATP

ووجـــود Fd المختزل ضـــرورى كعامـــل مختزل وسطى ولـكـــــن يمكن ابدالـــــه بمركـــب dithionate أو H_2 فى وجود عامل لمسى methyl - or benzylviologen .

ونظام النيتروجينيز لميكروب *Chromatium* يبدو مشابها فى جميع خواصه لمثيله فى *Azotobacter* مثلا حيث يـختزل النتروجين إلى امونـيا والاستيلين إلى ايثـيلين . كما أن الطاقة اللازمة لتثبيت النتروجين مشابهة نوعيا لمثيلتها اللازمة لتمثيل ك أ، مما يؤكد ان نشاط النيتروجنيز يتلازم (يتقابل) مع تخليق ATP فوتوكيمياويا .

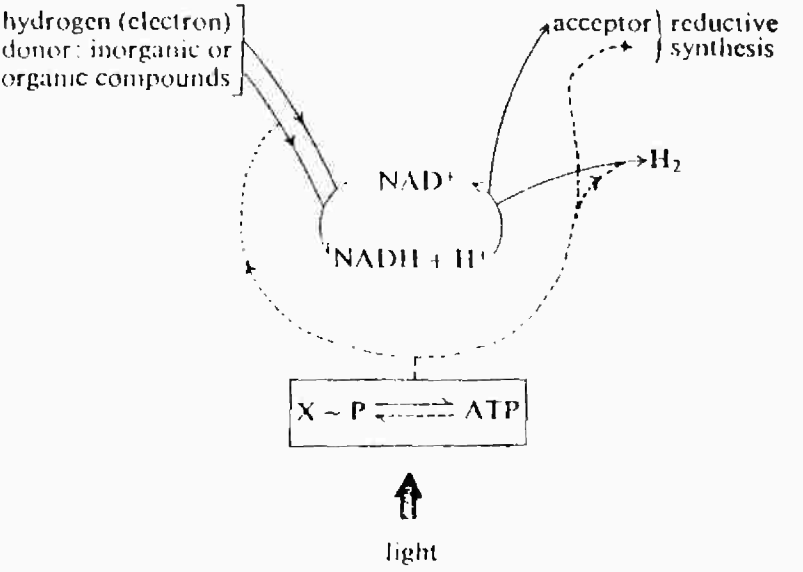
وتشير القيـاسات الكمية للنتروجين المثبت فى ميكروب *Rhodospirillum rubrum* إلى أن حوالـى ٦ مول من المالات ، الفـورمات ، السكسيـنات أو ١٠ مول من البـيروفات تستهلك لتثبيت مول من جزى النتروجين ويثبط التفاعل بوجود الامونيا .

ويعتبر تثبيت النتروجين هو طريق آخر لاستـخدام الالكترونات المنبعثة من الكلوروفيل والمثارة بواسطة الضوء وهـذا التداخل بين الاختزال الضوئي للايدروجين وتثـبيت النتروجين ضوئيا لايبدو مقتصرا على البكتريا الفوتـوتروفية وعلى سبيل المثال الطحالب الخضراء المزرقة ذات القدرة على تثبيت النتروجين يمكن أقلمتها على تكوين الايدروجين .

٣-١٠ مستقبل الالكترون فى البكتريا الارجوانية :

Electron acceptor in purple bacteria

تـم التركيز عـلـى تكوين ATP ومعطيات الايدروجـين ولـم يذكـر الشئ الكثير عـن مستقبلات الايـدروجين (او الالكترون) ولقد ذكـر سابقا وجـود دلائل على العلاقة بين تركـيز ك أ، وانطلاق H_2 وكذا عن الـتنافس بـين انطلاق H_2 وتثبيت N_2 ويمكن تصـــور طريقة انسياب الايدروجـين (الالكترون) مـن المعطـى إلى المستقبل كمـا بالرسم التالى .



شكل (٣-١٦) : ميكانيكية انتقال الالكترونات من المعطى إلى المستقبل وتكوين القوة المختزلة

وتستخدم القوة الاختزالية $NADH.H^+$ فى عدد كبير من عمليات التخليق المختزلة مثل تمثيل ك أ إلى مكونات الخلية أو نقل مركبات C_2 , C_3 إلى مواد مخزنة وايضا اختزال الامونيا لتكوين الاحماض الامينية وبالتالى إلى تخليق البروتين وفى حالة وجود فائض من ATP , $NADH_2$ عن حاجة العمليات الحيوية فإن $NADH_2$ يعاد اكسدته بانطلاق جزئى الايدروجين وهذه العملية نوع من التوجيه التنظيمى ليحفظ ATP , $NADH_2$ عند مستوى يتناسب مع الاحتياج الكلى للنشاط الحيوى .

وفى النباتات والبكتريا الخضراء وبعض البكتريا الارجوانية الكبريتية يذهب الجزء الاكبر من ATP إلى اختزال ك أ لتخليق مادة الخلية اما البكتريا الكبريتية غير الارجوانية وبعض الارجوانية الكبريتية فإنها تكون مادة الخلية من مواد عضوية خارجية هيتيروفيا أى أن استعمال ك أ كمصدر وحيد للكربون فى عملية التمثيل الضوئى ليس صفة مميزة (أو منفردة) لها ولكن يقتصر على الكائنات المعروفة بـ autotrophs .

اسئلة لمراجعة الباب الثالث

١ - اشرح معادلة فان نيل للتمثيل الضوئى .

٢ - اشرح الفروق الرئيسية بين الفسفرة الضوئية الحلقية والغير حلقية .

٣ - اذكر اسم ٣ عائلات رئيسية للبكتريا الممثلة للضوء مع ذكر الصفات المميزة لكل منها .

٤ - ناقش كيفية انتقال الالكترون فى عملية التمثيل الضوئى هوائيا مع ذكر الفروق الرئيسية عنها فى العائلات الثلاث للبكتريا الممثلة للضوء .

٥ - « افراد عائلة Athiorhedaceae يمكنها النمو اما لا هوائيا فى وجود الضوء (تمثيل ضوئى) أو هوائيا فى الظلام (التنفس) أى يستطيع الكائن التحول من الفسفرة الضوئية إلى الفسفرة الموكسدة » ناقش هذه العبارة موضحا

- تأثير الضوء على الفسفرة المؤكسدة .
- تأثير الاكسجين على الفسفرة الضوئية .

٦ - « تستطيع *Chromatium* انتاج الايدروجين او استعمال الايدروجين كمعطى للالكترون اثناء التحولات الايضية بمصاحبة الضوء » ناقش هذه العبارة .

٧ - وضح كيفية تكوين البولى هيدروكسى بيوترات اثناء تحولات الاستيات بواسطة *Rhodospirillum rubrum* .

٨ - اشرح اهمية دورة TCA لاهوائيا وتثبيت ك أ اختزاليا بالنسبة للبكتريا photoorganotrophs .

٩ - حدد العلاقة بين تمثيل النتروجين وانطلاق الايدروجين فى البكتريا الممثلة للضوء .

١٠ - اشرح كيفية تحول المركبات الاروماتية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء .

المراجع

1. Arnon, D.I. (1959). Conversion of light into chemical energy in photosynthesis. Nature (London), 184 : 10.
2. Arnon, D.I., Tsujinoto, H.Y. and McSwain, B.D. (1965), photsynthetic phosphorylation and electron transport. Nature (London) 207 : 1367.
3. Buchanon, B.B. (1969). Role of ferredoxin in the synthesis of α-ketobutyrate from propionyl Coenzyme A and Co_2 by enzyme from photosynthetic and nonphotosynthetic bacteria. J. Biol. Chem. 244 : 4218.
4. Calvin, M. and Androes, G.M. (1962). Primary quantum conversion in photosynthesis. Sci. 138 : 867.
5. Case, G.S. and Parson, W.W. (1971). Thermodynamics of the primary and secondary photochemical reactions in *Chromatum*. Biochem. Biophys. Acta. 253 : 187.
6. Cohen–Bazine, G., Pfennig, N and Kunisawa, R. (1964). The fine structure of green bacteria. J. Cell Biol. 22 : 207.
7. Cusanovich, M.A., and Komen, M.D. (1968). Light–induced electron transfer in *Chromatium* Strain D. III. Photophosphorylation by *Chromatium* chromatophores.. Biochem. Biophys. Acta 153 : 418.
8. Dutton, P.L. and Evans, W.C. (1969). The metabolism of aromatic compounds by *Rhodopseudomonas palustris*. A new reductive method of aromatic ring fission. Biochem. J. 113 : 525.
9. Fogg, G.E. (1968). "Photosynthesis" English Univ. Press, London.
10. Gest, H., Pietro, A.S. and Vernon, L.P. (1963). "Bacterial photosynthesis". Antioch Press, Yellow Springs, Ohio.

11. Gibbs, M. (1970). The inhibition of photosynthesis by oxygen. Amer. Sci. 58 : 634.

12. Hoare, D.S. and Hoare, S.L. (1969). Hydrogen metabolism by *Rhodomicrobium vannielii*. J. Bacterial, 100 : 1124.

13. Lees, H. (1955). "The photosynthetic bacteria" in : "Biochemistry of autotrophic bacteria" (H. Lees, ed) p. 61. Butterworth, London).

14. Losada, M., Whatley, F.R. and Arnon, D.I. (1961). Separation of two light reactions in non cyclic photophosphorylation of green plants Nature (London), 190 : 606.

15. Sohôn, C. ang Biedermann, M. (1967). Growth and adaptive hydrogen production of *Rhodospirillum rubrum* (F1) in anaerobic dark cultures. Biochem. Biophys. Acta, 304 : 65.

16. Schlegel, H.G. (1986). General Microbiology. 6th Ed., Cambridge Univ. Press, London.

17. Uffen, R.L. (1973). Growth poroperties of *Rhodospirillum rubrum* mutants and fermentation of pyruvate in anaerobic, dark conditions. J. Bacteriol. 116 : 874.

18. Van Niel, C.B. (1941). The bacterial photosynthesis and their importance for the general problem of photosynthesis. Advan. Enzymol. 1 : 263.

19. Vernon, L.P. (1968). Photochemical and electron transport reactions of bacterial photosynthesis. Bacterial. Rev. 32 : 243.

20. Wertlieb, D. and Vishniac, W. (1967). Methane utilisation by *Rhodops. gltinesa*. J. Bacteriol. 93 : 1722.