

Photosynthese: Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie, die zur Synthese der zellulären Strukturen aus anorganischen Substraten verwendet wird.

- **Lichtreaktionen:** Lichtabsorption, Energiekonversion und Synthese energie-reicher Verbindungen. Die Lichtreaktionen finden an den Thylakoidmembranen der Chloroplasten statt.
- **Dunkelreaktionen:** Stoffwechselreaktionen der Photosynthese, die örtlich getrennt von den Lichtreaktionen im Stroma der Chloroplasten stattfinden und zum Aufbau von Kohlenhydraten führen.

Cyanobakterien: Gruppe von Eubakterien, die zur oxygenen Photosynthese befähigt sind und vor ca. 2,7 Milliarden entstanden sind.

Oxygene Photosynthese: Photosynthese, die Wasser als Elektronendonator nutzt und Sauerstoff freisetzt. Entstand in den Cyanobakterien und ist charakteristisch für die Photosynthese der Eukaryoten.

Endocytobiose: Ereignis im Laufe der Evolution der eukaryotischen Organismen, bei dem ein heterotropher Organismus ein Cyanobakterium mit oxygenen Photosynthese aufgenommen hat, das sich zum Chloroplasten entwickelte (Endosymbiontentheorie).

Chloroplast: Organell der eukaryotischen Pflanzenzelle, in dem die Photosynthese stattfindet.

6.2 Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie

In den **Lichtreaktionen** der Photosynthese wird die Energie von Lichtquanten in chemische Energie umgewandelt (**Energiekonversion**): Zur optimalen Lichtnutzung entwickelten sich mit den Thalli und Blättern flächige Photosyntheseorgane. In den Thylakoidmembranen lokalisierte **Photosynthesepigmente** absorbieren das Licht. Das ausgedehnte konjugierte Doppelbindungssystem der **Chlorophylle** als primäre Photosynthesepigmente erlaubt die effiziente **Absorption** der Lichtquanten. **Akzessorische Pigmente** schützen die Chlorophylle und modulieren das Absorptionsspektrum. Die Energie der angeregten Elektronen wird auf ein Akzeptormolekül übertragen und damit die Lichtenergie in stabile chemische Energie umgewandelt (**photochemische Reaktion**). Ein Teil der Energie geht verloren, hauptsächlich als Wärmestrahlung und Fluoreszenzlicht.

Die Photosynthese nutzt die Energie des Sonnenlichts im sichtbaren Spektrum, das von blauem Licht der Wellenlänge $\lambda = 400 \text{ nm}$ bis zu dunkelrotem Licht bei 700 nm reicht. Dem **Licht** jeder Wellenlänge ist aufgrund seiner Quantennatur eine **Energiemenge** zugeordnet und man kann das Licht in gleicher Weise wie chemische Substanzen mit Mol-Mengen quantifizieren. Ein Mol Licht enthält somit $6,022 \cdot 10^{23}$ Quanten. Als Synonym zu Lichtquant wird häufig

der Begriff **Photon** genutzt. Helles Sonnenlicht strahlt beispielsweise mit einer Quantenflussdichte von etwa $2000 \mu\text{mol Quanten} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ auf den Boden oder ein Laubblatt ein. Bei dieser Lichtstärke gelangen auf die Fläche eines Quadratmeters in jeder Sekunde $2000 \mu\text{mol}$ oder $1,2 \cdot 10^{21}$ Quanten. Hierbei ist blaues Licht ($\lambda = 400 \text{ nm}$) mit 299 kJ/mol Quanten energiereicher als längerwelliges Licht (170 kJ/mol bei 700 nm). Diese Betrachtung zeigt, dass die für die Photosynthese verfügbare Lichtenergie durch die Menge Quanten bestimmter Wellenlänge beschrieben wird, die pro Fläche und Zeit genutzt werden kann.

Einfache photosynthetische Organismen, wie viele Cyanobakterien und manche Algen sind einzellig. Im Laufe der Evolution entwickelten sich zur optimalen Lichtnutzung flächige Photosyntheseorgane wie die **Thalli** bei Algen und Lebermoosen und **Blätter** bei Laubmoosen, Farnen und höheren Pflanzen.

Zur **Veranschaulichung** der bei der Photosynthese nötigen Strukturen betrachten wir ein Bohnenblatt von 5 cm Durchmesser (Abb. 6.1). Der **Gasaustausch** lässt sich durch Infrarotgasanalyse verfolgen. Ein verdunkeltes Blatt atmet und gibt CO_2 ab (Abb. 6.1). Nach Belichtungsbeginn wird die Photosynthese über einige Minuten aktiviert, und das Blatt entnimmt der Luft netto CO_2 . Nach Verdunkelung sinkt die CO_2 -Aufnahme sofort ab. Nach einem kurzzeitigen Überschwingen erreicht die CO_2 -Abgabe wieder den Wert der Dunkelatmung zu Beginn des Experiments. Zur Umgebung wird das Blatt durch die Epidermis abgegrenzt. Gasaustausch erfolgt durch die Spaltöffnungen. Im Querschnitt ist zwischen den beiden Epidermiszellschichten das **Mesophyll** zu sehen. Durch die Interzellularen ist das Blatt für den Gasaustausch optimiert und dient der Photosynthese. Im rasterelektronenmikroskopischen Bild ist die lockere Anordnung der Mesophyllzellen in einem Gerstenblatt erkennbar, dem die untere Epidermis abgezogen wurde. Leitbündel stellen die Transportverbindung zu den anderen Pflanzenorganen wie den Wurzeln, Blüten und Früchten her. Sie sind als **Blattadern** sichtbar; zwischen den Adern liegt das photosynthetisch aktive Mesophyllgewebe in den sogenannten **Interkostalfeldern**. Innerhalb der Mesophyllzellen findet die Photosynthese in den **Chloroplasten** statt, die ab den höher differenzierten Grünalgen bis hin zu den höheren Pflanzen ellipsoid geformt sind. Die Thylakoidmembranen in den Chloroplasten liegen als dreidimensionales Netz von **Granastapeln** aus dicht gepackten **Thylakoiden** und einfachen Stromathylakoiden vor, in die die photosynthetischen Proteinkomplexe eingebettet sind. Zwischen den Dimensionen des Blattes mit einigen Zentimetern und den Photosynthesekomplexen liegt ein Größenfaktor von zehn Millionen. Trotz ihrer geringen Dimensionen lassen sich die Proteinkomplexe mit Methoden der Einzelmolekülanalyse wie Elektronenmikroskopie und Rasterkraftmikroskopie darstellen. Die Photosynthese wird strukturell und funktionell mit einer Vielzahl von chemischen, physikalischen, zellbiologischen, genetischen und physiologischen Methoden auf den verschiedenen Organisationsebenen untersucht (Abb. 6.1).

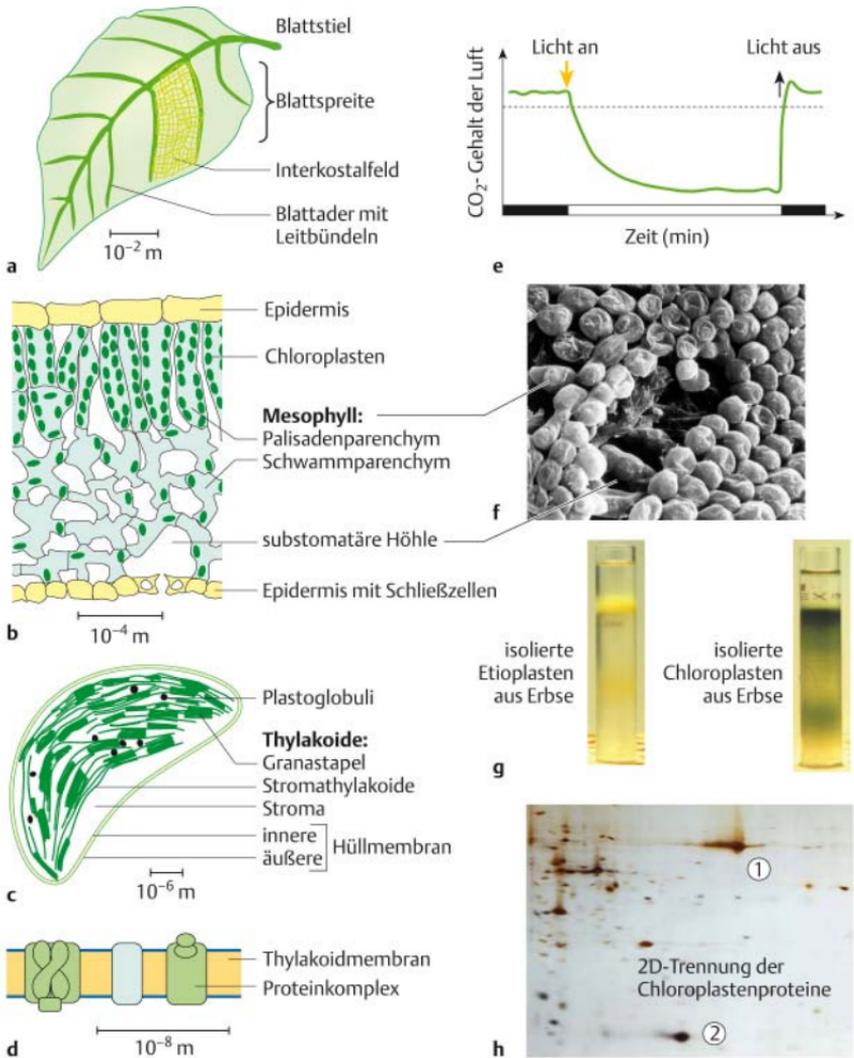


Abb. 6.1 **Strukturelle Grundlagen der Photosynthese auf unterschiedlichen Organisationskalen und ihre Analyse.** **a** Blatt mit Adern und Interkostalfeldern, **b** Blattquerschnitt mit Mesophyll, **c** geschnittener Chloroplast mit Thylakoiden, **d** Ausschnitt aus der Thylakoidmembran mit Photosynthese-Proteinkomplexen, **e** CO₂-Gaswechsellmessung an einem Blatt. Die gepunktete Linie zeigt die CO₂-Konzentration der Ausgangsluft. **f** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf das Mesophyll eines Gerstenblatts nach Abziehen der unteren Epidermis, **g** Zentrifugenröhrchen mit Dichtegradienten, in dem gelbe Etioplasten oder grüne Chloroplasten aus Erbsenblättern aufgetrennt wurden, und **h** zweidimensionale Auftrennung der Chloroplastenproteine. 1 und 2 markieren beispielhaft die Position der großen und kleinen Untereinheiten der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase. In **a** bis **d** sind Größenbalken zur Orientierung angegeben.

Isolierung von Chloroplasten: Chloroplasten können aus Blättern verschiedener Pflanzen wie Erbse, Spinat und Arabidopsis durch mechanische Aufarbeitung in einem **Küchenmixer** herausgelöst und durch **Gradientenzentrifugation** gereinigt werden (Abb. 6.1g). Die nur von der doppelten Hüllmembran umgebenen Chloroplasten sind hierbei in einem **Puffermedium** osmotisch zu stabilisieren, da sie in hypoosmotischen Medien durch Wasseraufnahme platzen. Ein beispielhaftes Medium besteht aus 300 mmol/l Sorbit als Osmotikum, 20 mmol/l Puffer, pH 8,4 zur Vermeidung von Ansäuerung, 5 mmol/l Ethylendiamintetraessigsäure zum Abfangen zweiwertiger Ionen, 2 mmol/l Ascorbinsäure als Reduktionsmittel und 0,1% Rinderserumalbumin als Schutzstoff. Die Isolierung wird bei 0°C durchgeführt. Die Chloroplasten sind bei Raumtemperatur für eine kurze Zeit zur Photosynthese befähigt. Intakte Chloroplasten tragen noch beide Hüllmembranen und führen die Licht- und Dunkelreaktionen der Photosynthese aus. Sie sind labil. Aus ihnen freigesetzte Thylakoidfraktionen enthalten nur die Membranen und sind zur Lichtreaktion befähigt. ◀

Im ersten Schritt der Photosynthese wird das Sonnenlicht „eingesammelt“. Die Absorption der Lichtquanten erfolgt in Pigment-Protein-Komplexen, den sogenannten **Lichtsammelkomplexen**. **Pigmente** sind gebundene Farbstoffe, die sichtbares Licht absorbieren. In allen Organismen mit oxygener Photosynthese agiert **Chlorophyll a (Chl a)** als **primäres Photosynthesepigment**. In den photosynthetischen Bakterien übt diese Funktion das **Bakteriochlorophyll a (BChl a)** aus. Darüber hinaus erfüllen Chl *b* in Pflanzen und Grünalgen, Chl *c* in Kieselalgen und Dinoflagellaten, sowie Chl *d* in Cyanobakterien zusätzlich zu Chl *a* die Funktion als Lichtsammelpigmente.

Durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln wie Ethanol lassen sich die Pigmente aus den Pigment-Protein-Komplexen der Thylakoidmembran herauslösen, chromatographisch in die Bestandteile zerlegen, hinsichtlich ihrer Struktur chemisch untersuchen oder als Farbstoffe in Lösung am Spektralphotometer vermessen. Absorptionsspektren werden gewonnen, indem die Absorption der Lösung gegen die Lichtwellenlänge aufgezeichnet wird.

Alle **Chlorophyllmoleküle** besitzen als gemeinsame Struktur ein **Porphyrinring-system** und einen lipophilen **Phytolrest** (Abb. 6.3). Als Farbstoff mit einem ausgedehnten konjugierten Doppelbindungssystem mit delokalisierten, d. h. leicht durch die Absorption von sichtbarem Licht anzuregenden, Elektronen, absorbiert das Chlorophyll die Lichtquanten sehr effizient. Experimentell wird das **Absorptionsspektrum** in der Lösung des reinen Farbstoffs bestimmt. Der **molare Extinktionskoeffizient** ϵ_λ beschreibt die Lichtabsorptionseffizienz bei der Wellenlänge λ . Die Absorptionsmaxima des Chlorophylls liegen im blauen und roten Spektralbereich (Abb. 6.2). Neben einem extrem hohen Extinktionskoeffizienten ($\epsilon_{460\text{ nm}} = 140\,000\text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ für Chl *b*) zeichnet Chlorophyll die Langlebigkeit der angeregten Zustände mit bis zu Nanosekunden aus, wodurch der Energietransfer auf andere Moleküle erleichtert ist.

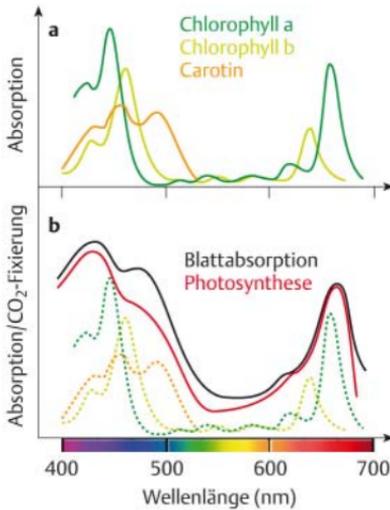


Abb. 6.2 **Absorptionsspektren von Chlorophyll a und b sowie β -Carotin.** a in Lösung, b Absorption und Wirkungsspektrum der Photosynthese eines Blattes.

Die organische Extraktion, die man auch zur Bestimmung der Chlorophyllgehalte pflanzlicher Gewebe einsetzt, verändert die Absorptionseigenschaften des Chlorophylls im Vergleich zum nativen Protein-Chlorophyll-Komplex. Isoziiertes Chl a besitzt bei 456 nm und 662 nm zwei Absorptionsmaxima, Chl b bei 460 nm und 645 nm, während das gebundene Chl a im Reaktionszentrum von Photosystem II langwelliger bei 680 nm absorbiert. Zwischen diesen beiden Absorptionsmaxima findet sich ein Bereich minimaler Lichtabsorption. Die Absorptionsschlücke führt zur grünen Farbe von Chlorophyll-haltigen Geweben, da das nicht absorbierte Licht teilweise transmittiert oder reflektiert wird (**Grünlücke**, Abb. 6.2).

Die Grünlücke wird teilweise durch weitere eingelagerte Farbstoffe, die **akzessorischen Pigmente**, verkleinert. Chlorophylle sind lichtempfindlich und bleichen bei Belichtung aus. Die in allen photosynthetischen Organismen zu findenden **Carotinoide** schützen einerseits angeregte Chlorophylle vor dieser photochemischen Zerstörung und vermitteln andererseits als akzessorische Pigmente die Weitergabe von Anregungsenergie an die Chlorophylle. Die Effizienz des **Energietransfers** zwischen den Protein-gebundenen Carotinoiden und Chlorophyllen kann 100% erreichen. Durch das ausgedehnte konjugierte Doppelbindungssystem absorbiert **β -Carotin** Lichtquanten mit Absorptionsmaxima im blaugrünen Spektralbereich.

In Cyanobakterien und Rotalgen erfüllen **Phycobiline** die Funktion der akzessorischen Pigmente. Zu den Phycobilinen zählen das **Phycoerythrin**, das **Phycocyanin** und das **Allophycocyanin**. Die Phycobiline sind strukturell mit dem Chlorophyll verwandt. Es handelt sich um offenkettige Tetrapyrrole (Abb. 6.3). Auch die Phycobiline binden an Proteine, sind als hochgeordnete Multiprotein-Pig-

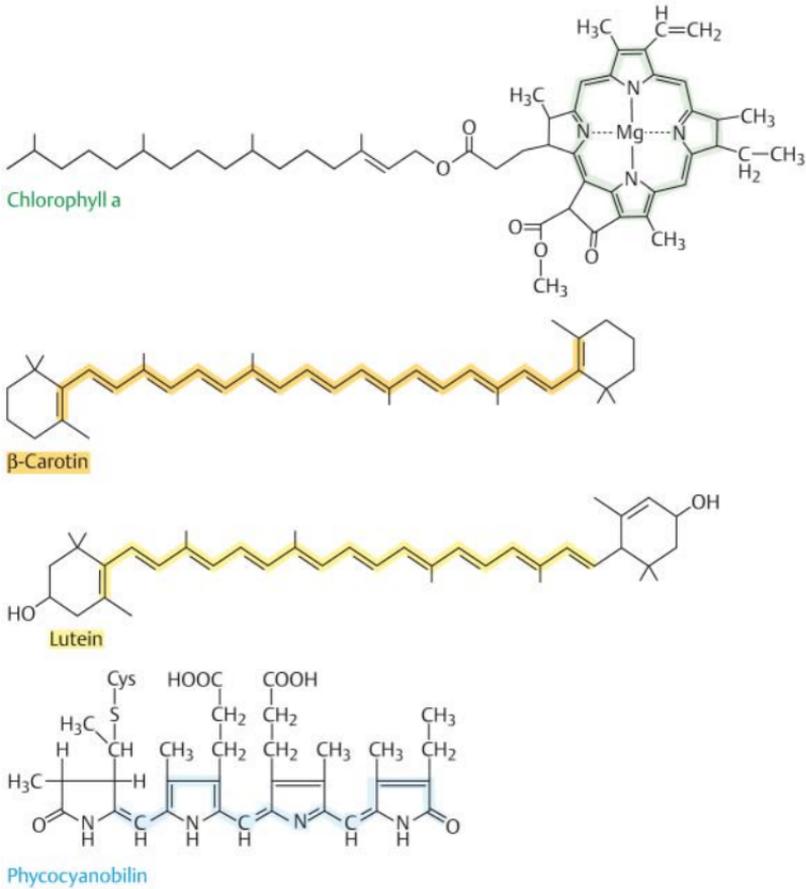


Abb. 6.3 Molekulare Struktur der photosynthetischen Pigmente Chlorophyll a, der Carotinoide β-Carotin und Lutein und Phycocyanobilin.

mentkomplexe, als **Phycobilisomen**, dem Photosystem II aufgelagert und erfüllen effizient die Funktion als Lichtsammelantenne, die die Grünlücke des Chlorophylls schließt (Abb. 6.4).

Die **Lichtqualität in tieferen Schichten** von Gewässern verengt sich durch Absorption des blauen und roten Lichtanteils auf den gelbgrünen Spektralbereich. Damit auch dieser Lichtbereich in der Photosynthese aquatischer Organismen verwertet werden kann, ist das Schließen der Grünlücke durch die Phycobiline wichtig. Das Phycoerythrin erfüllt diese Funktion gut, da es zwischen 560 und 580 nm absorbiert. Rotalgenindividuen derselben Art aus tieferen Meeresschichten reichern die Phycobilisomen in den Chloroplasten an, und ihre

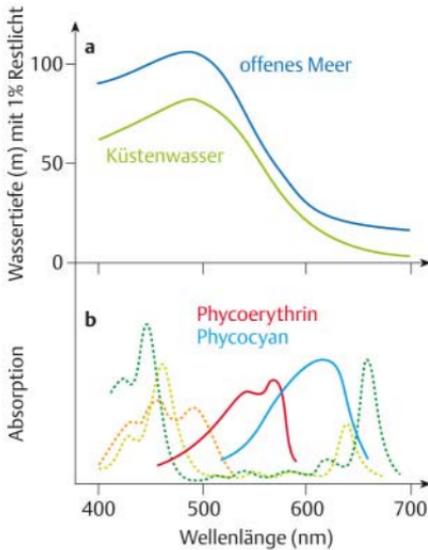


Abb. 6.4 **Lichtqualität.** Wellenlängenabhängige Eindringtiefe sichtbaren Lichts in küstennahem und offenem Meeressgewässer (a) und das Füllen der Grünlucke durch das Phycoerythrin und Phycocyanin (b).

Thalli sind tiefrot gefärbt, während solche aus der Nähe der Wasseroberfläche grün gefärbt sein können. Die Bedeutung dieser auch **chromatische Adaption** genannten Anpassung wird dadurch belegt, dass Phycobilisomen bis zu 40% des zellulären Proteins stellen. Die sehr große Ressourcen-Investition ist ein Hinweis auf den Konkurrenzvorteil, den die Phycobilisomen den Rotalgen und Cyanobakterien gegenüber den Grünalgen verschaffen, die in tieferen Schichten des Meeres nicht vorkommen.

Die **Absorption eines Lichtquants** überführt das Farbstoffmolekül in den **angeregten energiereichen Zustand**. Abb. 6.5 illustriert dies mit dem elektronischen Energiediagramm nach **Jablonski**. Ein delokalisiertes Elektron nimmt verschiedene energetische Niveaus ein, die als Singulettzustand S_0 (Grundzustand), und, nach Energieaufnahme, S_1 (1. angeregtes Singulett), S_2 (2. Singulett) und T_1 (Triplett) bezeichnet werden. Nach Absorption eines energiereichen blauen Lichtquants durch das Chlorophyll wird ein Elektron auf das 2. Singulett angehoben, nach Absorption eines roten Quants auf das 1. Singulett. Die Differenz zwischen Grundzustand S_0 und Anregungszustand des Elektrons (1. und 2. Singulett S_1 und S_2) entspricht dem Energieinhalt des absorbierten Quants, wobei in jedem Zustand durch Rotations- und Schwingungseigenschaften energetische Unterniveaus existieren. Wärmeabgabe führt rasch zum Erreichen des niedrigsten S_1 -Energiezustands.

Die verbliebene Anregungsenergie wird über mehrere Wege abgegeben:

- **Wärmestrahlung,**
- Abgabe eines Quants als **Fluoreszenzlicht** längerer Wellenlänge als das Anregungslicht,

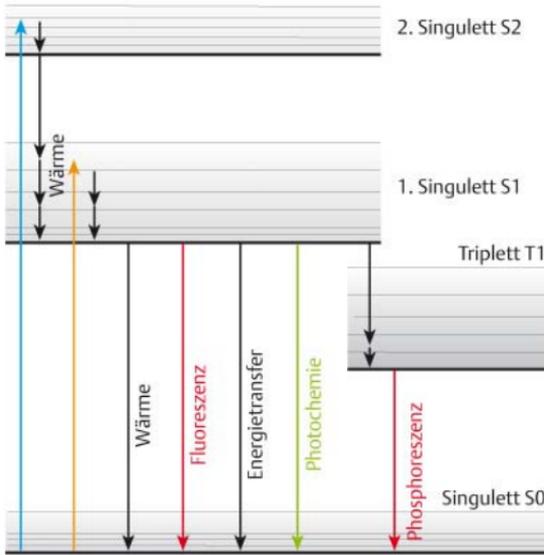


Abb. 6.5 Energiediagramm des Chlorophylls nach Jablonski.

- **Energietransfer** auf ein anderes Molekül, das dadurch in den angeregten Zustand überführt wird,
- **photochemische Reaktion**, beispielsweise durch Elektronenübertragung auf ein Akzeptormolekül, oder
- nach Erreichen des Tripletzustands, als zeitverzögerte **Phosphoreszenz**.

Die Verteilung der verfügbaren Energie auf diese Prozesse hat eine funktionelle und eine experimentelle Konsequenz. Nur der Prozess der **photochemischen Reaktion** dient der Photosynthese, da er die Umwandlung der Lichtenergie in stabile chemische Energie ermöglicht (**Energiekonversion**). Da die Summe abzugebender Energie bei gleichbleibender Anregung konstant ist, wirkt sich die Stimulierung oder Hemmung der Photosynthese auf die Fluoreszenzemission und die Hitzeentwicklung aus (Abb. 6.6). Hauptsächlich wird die absorbierte Energiemenge auf die drei Prozesse der Photochemie, Wärmeabgabe und Emission von Fluoreszenzlicht verteilt. Ist die Photochemie sehr aktiv, wird nur wenig Energie in die beiden anderen Prozesse eingeschleust. Wird die Photochemie beispielsweise durch abiotischen Stress wie Hitze und Dürre gehemmt, steigen folglich die Wärmeabgabe und die Fluoreszenz.

Aufgrund dieses Zusammenhangs eignet sich die Emission der **Chlorophyll α -Fluoreszenz**, die bei natürlich auftretenden Temperaturen hauptsächlich vom Photosystem II abgegeben wird, als Indikator für den Zustand der Photosynthese. Die Registrierung der von Pflanzen, Geweben, Chloroplasten oder isolierten Photosyntheseproteinkomplexen emittierten Chlorophyll α -Fluoreszenz erlaubt die einfache und nicht zerstörerische Erfassung der **Photosyntheseleistung**. Die