# الفصل الثاني

## صبغات البناء الضوئي

**• المقدمة • الصبغات الأساسية • كلوروفيل أ وتركيب الكلوروفيلات • بناء الكلوروفيلات • الصبغات المساعدة • كلوروفيل ب • أشباه الكاروتين • الكاروتينات • الزانثوفيلات • طرق التعرف على الكلوروفيلات وتقديرها**

### المقدمة

لعل أول من ذكر ضرورة الإضاءة للنباتات الخضراء هو العالم جان إنجنهاوس (Jan Ingenhousz) في القرن الثامن عشر الميلادي حين أعاد تجارب العالم بريستلي (Priestly) عن تنقية الهواء ووجد ضرورة ضوء الشمس لذلك. يعد الضوء طاقة لا بد من اقتناصها بواسطة النباتات لكي تحدث عملية البناء الضوئي. توالت البحوث، ووجد أن البناء الضوئي يحدث في مرحلتين: واحدة منهما، فقط، هي التي تتطلب الضوء فعلا حيث النتيجة هي تكوين مركب ثلاثي فوسفات الأدينوزين adenosine triphosphate (ATP) من (ADP) واختزال المرافق الإنزيمي فوسفات ثنائي نكليدتي نيكوتينأميد والأدينين nicotinamide adenine dinucleotide phosphate ($NADP^+$) لكي

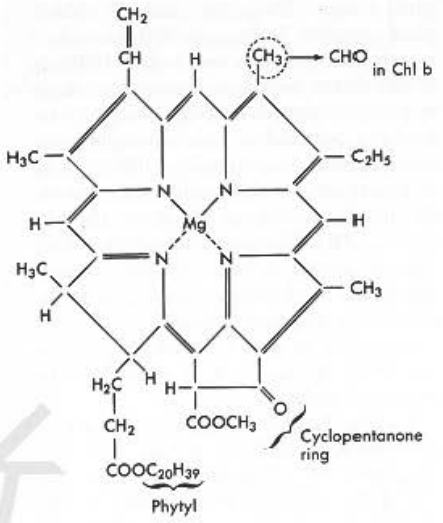
يتم ذلك لابد من امتصاص الطاقة الضوئية حيث يمتص بواسطة صبغات هي صبغات البناء الضوئي، ويمكن تقسيمها إلى مجموعتين ، أساسية ومساعدة في اقتناص الطاقة الضوئية والمساهمة في البناء الضوئي. تعد الصبغات النباتية واحدة من طوائف المستقبلات الضوئية في النباتات والتي منها طوائف صبغات التشكل النباتية كما هي في الباب الثاني .

## الصبغات الأساسية

### كلوروفيل أ وتركيب الكلوروفيلات

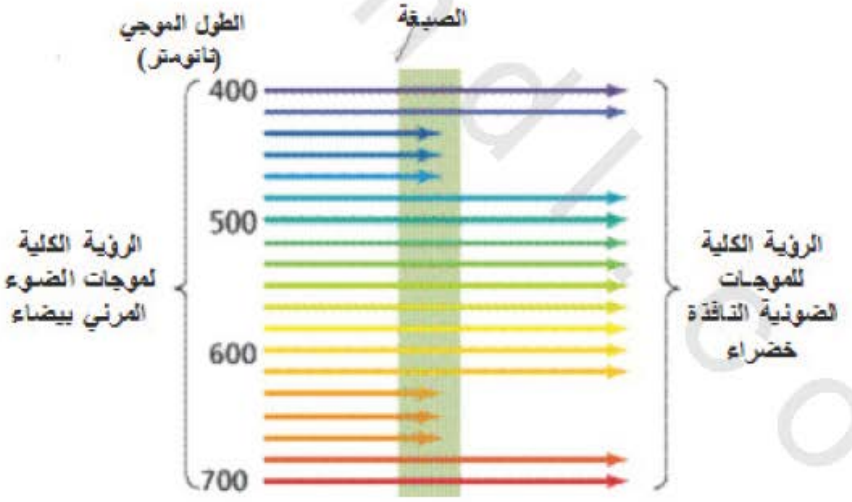
تُصنف الكلوروفيلات كيميائياً مع البورفيرينات porphyrins حيث تتكون من رباعيات البيرول المعدنية metallo-tetrapyrroles ترتبط بها حلقة خاصة هي سايكلوبنتانون cyclopentanone. يتكون جزئ البيرول من أربع ذرات من الكربون وذرة نيتروجين مرتبة في حلقة خماسية. يحيط أربع حلقات من البيرول بذرة معدنية في الوسط مثل المغنيسيوم لتكوين الشكل الحلقي وهو الهيكل البورفيريني porphyrin structure. وترتبط بحلقات البيرول مجموعات كيميائية تميز أنماط الكلوروفيلات. من أكبر هذه المجموعات سلسلة من الهيدروكربون (٢٠ ذرة كربون) يطلق عليها الذيل الفيتولي phytol tail والمرتبط برابطة إيسترية مع مجموعة البروبينايل propionyl group والكلوروفيلات جزيئات متنافرة مع الماء hydrophobic. يساهم الذيل الفيتولي في ربط الكلوروفيل بالغشاء الثايلاكويدي في البلاستيدة الخضراء في النباتات والشكل رقم (٢,١) يوضح الصيغ الكيميائية لكلوروفيل أ وكلوروفيل ب والاختلاف بينهما في مجموعة واحدة هي في كلوروفيل أ ($-CH_3$) وفي كلوروفيل ب (-CHO). تعرف الكيميائيون على أكثر من ١٠٠٠ كلوروفيل مختلف وموجود طبيعيا. توجد الكلوروفيلات في الكائنات التي تقوم بعملية البناء الضوئي، ويسود كلوروفيل أ ذو

الصيغة الكيميائية ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5$) في النباتات والطحالب والبكتيريا الخضراء المزرقة والبروكلورون *Prochloron* <http://science.jrank.org/pages/5302/Plant-Pigment-Chlorophylls.html> و (Raven *et al.*, 1999). يتميز كلوروفيل أ بوجود مجموعة ميثيلية ($-CH_3$) خلافاً للصبغة المساعدة كلوروفيل ب التي توجد بها مجموعة فورمايل formyl ($-CH=O$). إن هذا الفرق في المجموعات المرتبطة يجعل كل منهما يمتص الضوء عند طول موجي مختلف قليلا (انظر الشكل رقم ٢,٣) . من الناحية التركيبية تتميز حلقة البورفيرين (رباعية البيرول) بنظام الروابط الكيميائية الثنائية المتبادلة conjugated double bond system مما يشكل سحابة إلكترونية يمكن استقطابها باتجاهين مختلفين ولذا فهناك وضعين للحالات المفردة singlet states لتهيج (إثارة) الإلكترون أي التي يمكن رفع الإلكترون إليها : الحالة المفردة للتهيج المنخفضة حيث تتطلب امتصاص الطاقة (الفوتون photon) في منطقة الفوتونات الحمراء (٦٤٠ إلى ٧٠٠ نانومتر)، والحالة المفردة للتهيج (الإثارة) الأخرى العالية، تتطلب الامتصاص لطاقة أكبر وفي منطقة الفوتونات الزرقاء (٤٣٠ إلى ٤٧٥ نانومتر)، وبقمتي امتصاص عند الطول الموجي ٤٣٠ و٦٦٣ نانومتر، ومن هنا تبدو الأوراق خضراء لعدم امتصاص الكلوروفيل للون الأخضر من الطيف المرئي وإعادة إنعكاس الطيف عند منطقة اللون الأخضر (انظر الشكل رقم ٢,٢). بصورة عامة يتميز الكلوروفيل أ بكونه الصبغة النباتية والتي تبدو خضراء مزرقة وأنها تمتص جزء من الضوء المرئي في الطيف الكهرومغناطيسي للإشعاعات electromagnetic spectrum، الشكل رقم (١,١) وينعكس جزء من هذا الطيف لتبدو الورقة خضراء ، الشكل رقم (٢,٢) وبقمتي امتصاص لكلوروفيل أ ٦٨٠ و ٧٠٠ نانومتر والشكل رقم (٢,٣) يوضح طيف الإمتصاص لكل من كلوروفيل أ وكلوروفيل ب .



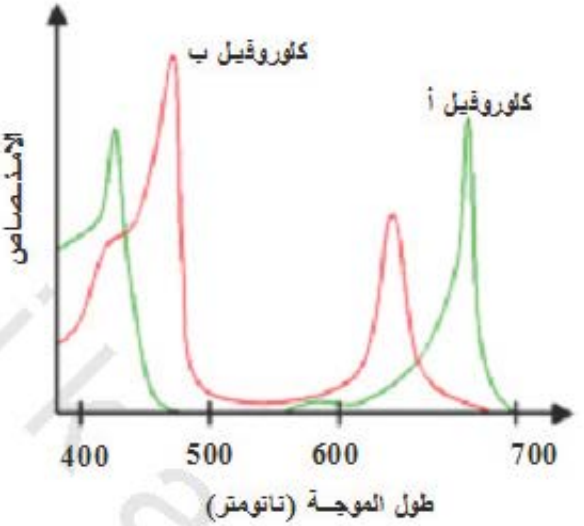

الشكل رقم (٢,١) . تركيب كلوروفيل أ وكلوروفيل ب . لاحظ الروابط الثنائية والمجاميع المرتبطة بالحلقات .

المصدر : (Clayton, 1965) .




الشكل رقم (٢,٢). الأطوال الموجية المرئية التي تظهر بيضاء بعد مرورها عبر الجسم (الورقة) حيث تصبح الأطوال المنعكسة والمنعكسة في مجملها خضراء .

المصدر (بتصرف): www.daviddarling.info/images/visible_light.gif




الشكل رقم (٢,٣). طيف الإمتصاص لكل من كلوروفيل أ و ب .

المصدر (بتصرف): www.daviddarling.info/images/visible_light.gif

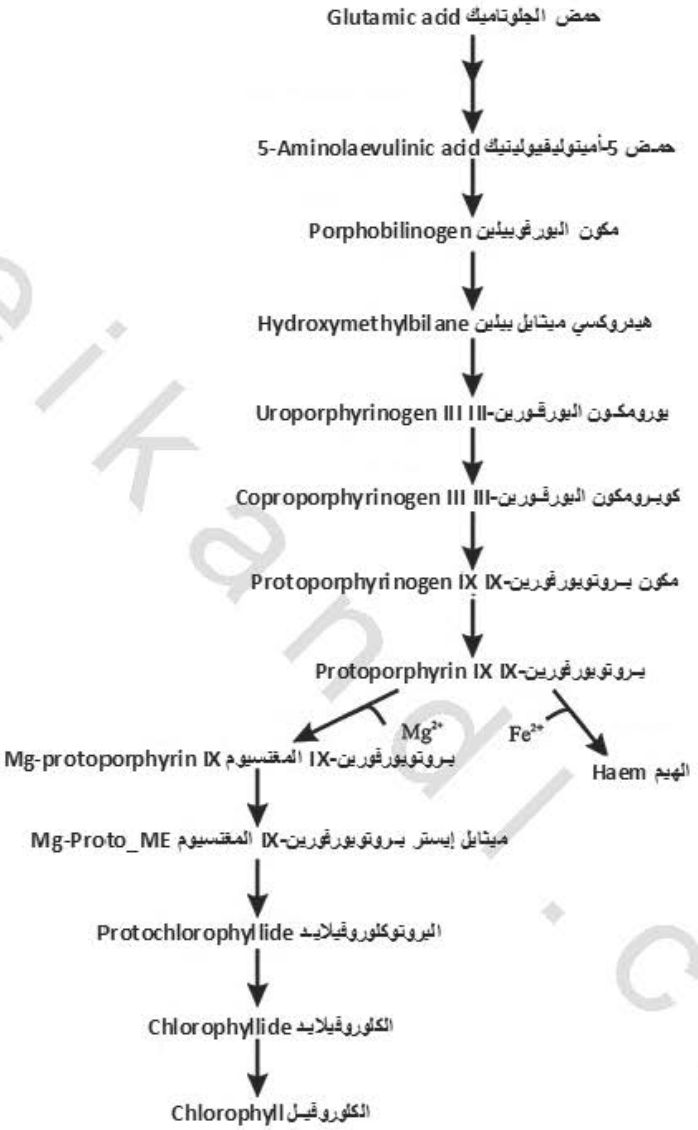
## بناء الكلوروفيلات

تبنى الكلوروفيلات في البلاستيدات الخضراء حيث يحول الحمض الأميني الجلايسين glycine وسكسينيل المساعد الإنزيمي أ succinyl CoA إلى حمض دلتا-أمينو ليفيولينيك delta-amino levulinic acid وذلك لبناء رباعيات البيرول . تستمر التفاعلات في هذا المسار حتى يتكون المركب الوسطي البروتوبورفيرين protoporphyrin 1X ؛ ففي البلاستيدات الخضراء تساهم الإنزيمات في ربط ذرة المغنسيوم برباعيات البيرول لبدء بناء الكلوروفيل أو ذرة الحديد لتكوين الهيم heme . يسمى مركب البروتوبورفيرين المرتبطة به ذرة المغنيسيوم Mg-protoporphyrin 1X بروتوكلوروفيلايد أ protochlorophyllide a والذي يتحول إلى كلوروفيلايد أ ثم إلى كلوروفيل أ في تفاعل يتطلب الإضاءة . أثناء التحول الضوئي يحدث إزاحة لقمة الامتصاص الضوئي

لكلوروفيلايد أ من ٦٨٤ إلى ٦٧٢ وخلال ما يقارب ٠,٥ من الساعة تعرف بإزاحة شيباتا Shibata shift ، (Shibata, 1957) .

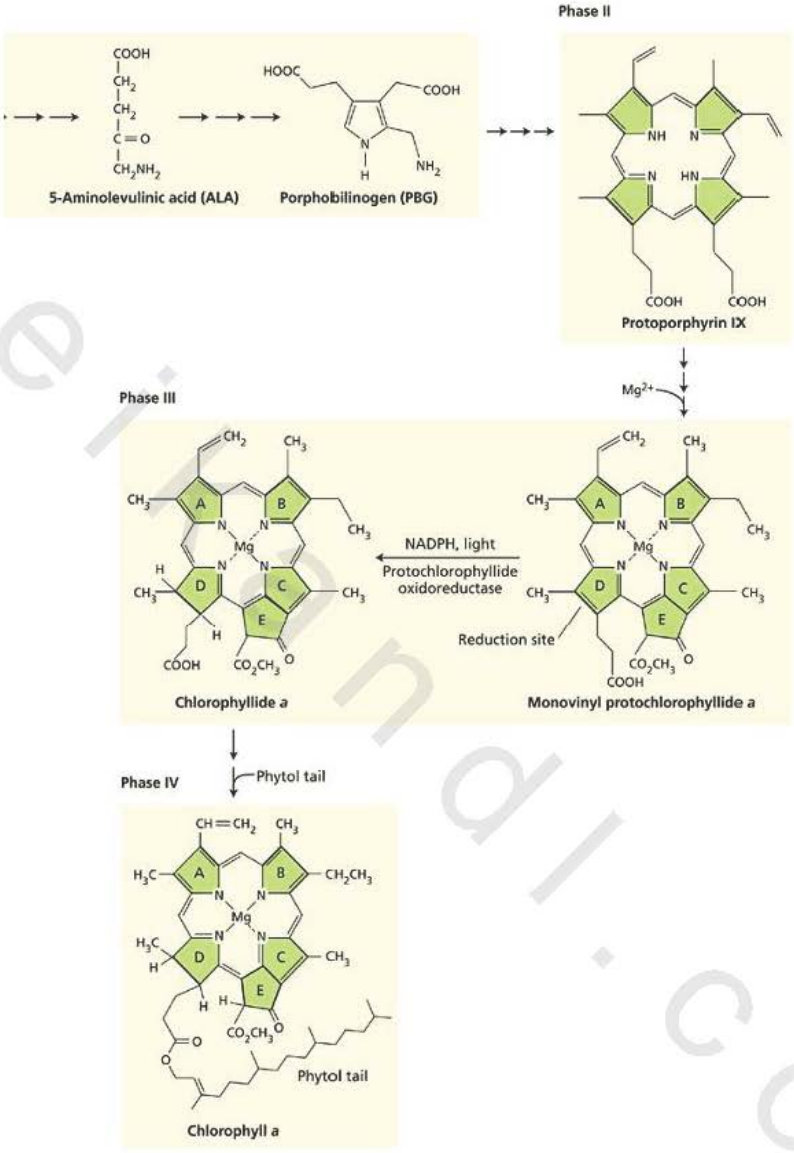
جانبيا يمكن انتقال مركب البروتوبورفيرين إلى الميتوكوندريا لتكوين السيتوكرومات . يعد الهيم مادة التفاعل الأساسية لبناء الفايتوكرومات phytochromes ، من هنا فمسار تكوين رباعيات البيرول مهم للنباتات من نواحي عدة ومنها البناء الضوئي (الكلوروفيل) والتنفس (السيتوكرومات) والتكشف (الفايتوكرومات)، انظر كلا من مخطط مسار بناء الكلوروفيل في الشكل رقم (٢,٤) والتركيب الكيميائي لأربعة أطوار في المسار يوضح المركبات الرئيسية في مسار بناء كلوروفيل أ الشكل (٢,٥).

تعد الإضاءة ضرورية لبناء الكلوروفيلات في معظم النباتات كاسيات البذور لأنها تكون شاحبة etiolated عند نموها في الظلام – يبدو أن المخروطيات وبعض السراخس والحزازيات لا تتطلب ذلك لأن الكلوروفيل يتكون في الظلام . تؤثر بعض العناصر المعدنية بطريق مباشر أو غير مباشر في مسار بناء الكلوروفيل ؛ فعنصر الحديد مرافق إنزيمي في الخطوة الأولى من مسار البناء وهي تكوين حمض دلتا-أمينو ليفيولينيك ، ونقص العناصر الأخرى مثل النيتروجين والمغنسيوم والمنجنيز والبوتاسيوم والزنك والنحاس يؤدي إلى الشحوب والاصفرار chlorosis . يعد كل من عنصري النيتروجين والمغنيسيوم جزء من تركيب الكلوروفيل ، أما بقية العناصر فقد تساهم كمرافقات لبعض الإنزيمات في مسار بناء الكلوروفيل (Salisbury and Ross, 1978) . تعد الكلوروفيلات مركبات غير ثابتة نسبياً، فالضوء الساطع ينتج عنه تكسير لها، وللمحافظة على مستوى كاف لاستمرار عملية البناء الضوئي يستمر بناء الكلوروفيلات بمعدل تكسيرها والذي يتطلب الإضاءة ودرجة حرارة مناسبة لكن انخفاض درجة الحرارة يغير من ذلك كما في بعض النباتات في المناطق المعتدلة وظهور ألوان الصبغات الأخرى بانخفاض كمية الكلوروفيلات (Helen, *et al.*, 2005) .




**الشكل رقم (٢,٤) . مخطط مبسط لمسار بناء الكلوروفيل ومركبات الهيم يوضح المركبات الرئيسية وقد حذفت أسماء الإنزيمات وتفرعات المسار للتبسيط ويمكن تقصي ذلك من المصادر الرئيسي (Moulin and Smith, 2005) .**

obeikandl.com




الشكل رقم (٢,٥). مسار بناء كلوروفيل أ موضحا أربعة أطوار توضح التراكيب الكيميائية للمركبات الرئيسية في المسار .

المصدر : (Taiz and Zeiger, 2006) .

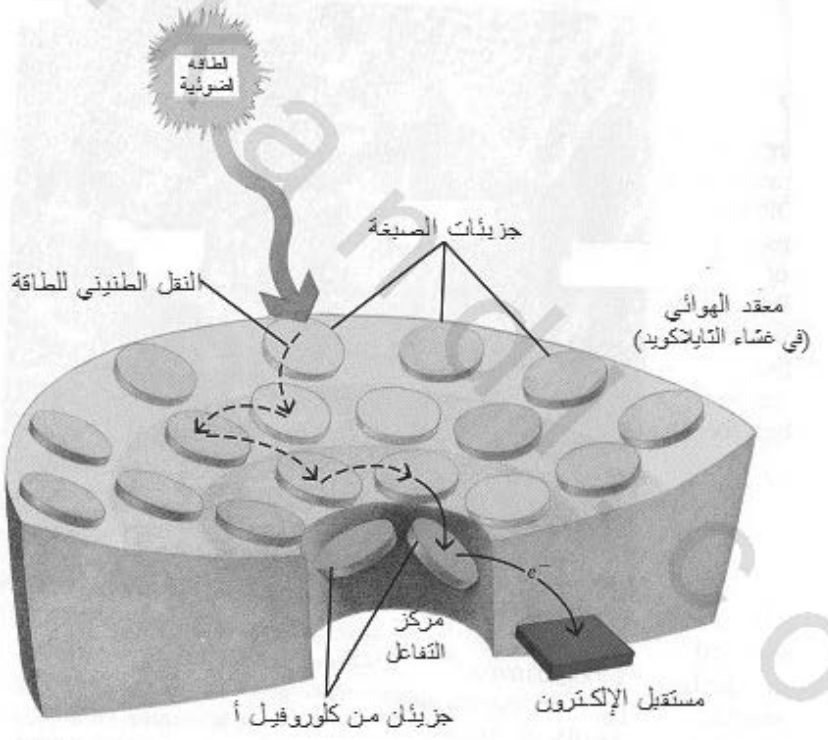
يعد كلوروفيل أ الصبغة الأساسية في عملية البناء الضوئي في الأنظمة المشابهة لنظام البناء الضوئي في المملكة النباتية (مثل كلوروفيل كلوروبيوم في البكتيريا الكبريتية الخضراء) حيث لايكون هناك بناء بدون كلوروفيل أ، لكن قد يحل محل كلوروفيل أ كلوروفيل آخر مثل كلوروفيل أ البكتيري bacteriochlorophyll a كما في البكتيريا الأرجوانية بقمة امتصاص في الأحمر البعيد infrared ما بين الأطوال الموجية ٨٠٠ و ٩٠٠ نانومتر (Raven et al., 1999). هناك أنواع أخرى من الكلوروفيل البكتيري مثل الكلوروفيلات البكتيرية ب و جـ و د و هـ والتي تساهم في عملية اقتناص الطاقة في البكتيريا التي تقوم بعملية البناء الضوئي . يوجد في بعض مجاميع الطحالب (البنية والدياتومات) وكذلك ثنائية الأسواط dinoflagellates كلوروفيلات جـ١ و جـ٢ وكذلك كلوروفيل د الذي كان يعتقد بأنه في الطحالب الحمراء فقط ، لكنه موجود في نوع فريد من البكتيريا وهو من البكتيريا المزرقة *Acaryochloris marina* ينمو على الطحالب الحمراء ويشكل كلوروفيل د في مركز تفاعل النظام الضوئي إلى كلوروفيل أ نسبة ٣٠:١ .

## الصبغات المساعدة

تتكون الصبغات المساعدة في المملكة النباتية من مجموعتين رئيسيتين : كلوروفيل ب و أشباه الكاروتين حيث تساهم في توسيع المدى الضوئي المستخدم في البناء الضوئي .

توجد هذه الصبغات مع كلوروفيل أ في ما يعرف بالنظام الضوئي (النظام الضوئي الأول Photosystem I أو رمزاً PSI ، ($P_{700}$) والنظام الضوئي الثاني Photosystem II أو رمزا PSII، ($P_{680}$) المنغمسة في الغشاء الثايلاكويدي thylakoid membrane للبلاستيدات الخضراء حيث تشكل هذه المراكز وحدات محددة من

كلوروفيل أ والصبغات المساعدة . يضم كل نظام ضوئي تجمع من الجزيئات الصبغية (نحو ٢٥٠ إلى ٤٠٠ جزيء) مشكلة مكونين مرتبطين ببعضهما (مركز التفاعل reaction center ومعقد الهوائي antenna complex) حيث يوجد زوج من كلوروفيل أ والمعقد البروتيني . وللإيضاح انظر الشكل رقم (٢,٦) (Raven, *et al.*, 1999) . كل صبغة مهيئة لامتصاص الطاقة الضوئية لكن معقد ما يشبه الهوائي يمرر الطاقة إلى المركز بواسطة النقل الطنيني للطاقة resonance energy transfer . إن قمة الامتصاص للضوء لكل صبغة من الصبغات المساعدة تكون في مناطق مختلفة عن منطقة امتصاص كلوروفيل أ .




**الشكل رقم (٢,٦) . رسم توضيحي لنقل الطاقة أثناء عملية البناء الضوئي**

**المصدر (بتصرف) (Raven, *et al.*, 1999) .**

يساهم معقد الهوائي الداخل في تجمعه كل من كلوروفيل ب وأشباه الكاروتين في التحكم في مدى الطاقة المنقولة إلى المركز لتحاشي احتمالية الضرر بالأكسدة الضوئية (Van Amerongen and Van Grondelle, 2001) .

في الكائنات الأخرى يوجد صبغات مساعدة مثل فيوكوزانثين fucoxanthin مساعدة في بلاستيدات الطحالب البنية و الطحالب الذهبية تمتص الضوء الأحمر. ومن الصبغات المساعدة الأخرى ، الفيكوبيلين.Phycobilins التي تذوب في الماء وتوجد في بعض الطحالب والبكتيريا الزرقاء وتقوم بدور الحامل الصبغي chromophore لاقتناص الطاقة في مناطق الضوء الأحمر والبرتقالي والأصفر والأخضر وتمريرها إلى الكلوروفيل. من الناحية التركيبية تحوي الفيكوبيلينات رباعيات البيرول ولكنها ليست في حلقة كما في الكلوروفيلات . وتظهر أهميتها ليس للكائنات فقط، بل قد تستغل كأداة بحث كيميائية " وسم ، علامة" "tags" حيث ترتبط الصبغة مع الأجسام المضادة وبالتالي باستخدام الإضاءة يمكن تتبع الأجسام المضادة في النسيج خاصة في البحوث المتعلقة بالسرطان. من الفيكوبلينات المشهورة الصبغة الحمراء الفايكوإريثرين phycoerythrin وتوجد في الطحالب الحمراء والصبغة الزرقاء الفايكوسيانين phycocyanin والموجودة في البكتيريا المزرقة cyanobacteria راجع (Speer, 1997) والعنوان التالي :

**<http://www.ucmp.berkeley.edu/glossary/glossary_P.html>**

## كلوروفيل ب

يوجد كلوروفيل ب ذو الصيغة الكيميائية ($C_{55}H_{70}MgN_4O_6$) في أفراد المملكة النباتية (النباتات الوعائية والحزازيات)، كما يوجد في الطحالب الخضراء والطحالب أشباه اليوجلينا. يتكون كلوروفيل ب من كلوروفيل أ دون تأثير للإضاءة. يختلف كلوروفيل ب عن كلوروفيل أ بأنه صبغة ذات لون أخضر مصفر وبوجود مجموعة

الفورمايل في الموقع بيتا β من أحد حلقات البيرول بدلا من المجموعة الميثيلية انظر الشكل رقم (٢,١). تكون نسبة كلوروفيل ب إلى كلوروفيل أ في غالبية النباتات نحو الثلث (١ : ٣) ، لكنها قد تتغير حسب بعض العوامل كنوع النبات والظروف البيئية السائدة . يمتص كلوروفيل ب الطاقة الضوئية في منطقة مختلفة قليلا عن منطقة امتصاص كلوروفيل ب وبقمتي امتصاص عند الطول الموجي ٤٦٣ و٦٤٨ نانومتر انظر الشكل رقم (٢,٣) . يعد كلوروفيل ب واحدا من تجمع معقد الهوائي الرئيسي في النظامين الضوئيين ويوجد أيضا في أكبر التجمعات الجانبية الصغيرة الأخرى في النظام الضوئي الثاني وهو تجمع بروتيني (٢٩ كيلو دالتون) يربط الكلوروفيلات ومنه الرمز CP29 (قد يشار إليه بوحيدة CP29) والذي يحوي ثمانية جزيئات من الكلوروفيل منها ستة من كلوروفيل أ وإثنان من كلوروفيل ب علاوة على جزيئان من أشباه الكاروتين-زانثوفيلات (Sandona, et al., 1998) . من الجدير بالذكر أن هناك دراسة على هذا التجمع الجانبي CP29 تشير إلى وجود موقع ربط لأيون الكالسيوم فيه (Jegerschold et al., 2000) . أجريت دراسة مقارنة لنقل الطاقة من كلوروفيل ب إلى كلوروفيل أ في الوحيدة الصغيرة الجانبية CP29 في المعقد الهوائي للنظام الضوئي الثاني فكانت النتيجة أن هناك ثلاث حالات من الفترة الزمنية التي يستغرقها النقل (١٥٠ فيمتوثانية و ١,٢ بيكوثانية و ٥-٦ بيكوثانية) من كلوروفيل ب-٦٥٢ نانومتر إلى كلوروفيل أ ، علاوة على وجود فترة في الأقل (٦٠٠-٨٠٠ فيمتوثانية) من كلوروفيل ب-٦٤٠ نانومتر (Croce et al., 2003) .

## أشباه الكاروتين

تعد أشباه الكاروتين بألوانها المختلفة- من الأصفر إلى الأحمر- من الصبغات الشائعة الانتشار في العالم الأحيائي (Tanaka, et al., 2008) . ففي المملكة النباتية تعمل بعض أشباه الكاروتين كصبغات مساعدة من صبغات البناء الضوئي في البلاستيدات الخضراء وتتميز بألوان حمراء أو برتقالية أو صفراء.

أحيانا توجد أشباه الكاروتين في البلاستيدات الأخرى كما في البلاستيدات الملونة في جذور الجزر وثمار الطماطم الحمراء والعديد من الأزهار الصفراء. يتضح لون أشباه الكاروتين في بادرات النباتات كاسيات البذور المنماة في الظلام لغياب الكلوروفيل الأخضر اللون وكذلك أوراق بعض النباتات في الخريف عند تكسر الكلوروفيل. عموماً في العالم الأحيائي قد تتخذ أشباه الكاروتين ألوانا مختلفة مثل الأخضر في ثمار الأفوكادو والقرمزي في حيوان الربيان أو قريبا للون الأسود في سائل الحبار (Salisbury and Ross, 1978). بصورة عامة، فالاعتقاد العام هو أن أشباه الكاروتينات تساهم في توجيه الطاقة الممتصة حسب الحالة الراهنة فإما أن يكون بنقل الطاقة للكلوروفيل للمساهمة في البناء الضوئي وإما بنقلها بعيدا (تبديد) عن الكلوروفيل لتفادي الأكسدة الضوئية (Demmig-Adams, et al., 1996) . يرى بعض العلماء أن أدوار أشباه الكاروتينات في الأقل أربعة أدوار: (١) إقتناص الطاقة و(٢) يعادل(يطفئ quenching) الحالة الثلاثية للكلوروفيل و(٣) إقتناص–ترمم scavenging–الأكسجين الأحادي و (٤) تثبيت التجمع التركيبي (Croce, et al., 1999; Peterman, et al., 1997)، ويضيف المرجع الأخير دوراً خامساً وهو تبديد الزيادة في الطاقة . بالطبع لا يهمل دور أشباه الكاروتينات في تكوين الألوان الزاهية في بعض أعضاء النبات كالأزهار والثمار والجذور وغيرها . انظر على سبيل المثال :

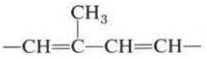
<http://www.astaxanthin.org/carotenoids.htm>

من ناحية أخرى يرى البعض الآخر أنه باستثناء دور أشباه الكاروتينات في البناء الضوئي فإن الوظائف المنسوبة لها لا تتعدى كونها تصورية دون دليل قاطع وهو استنتاج ذكر قبل ثلاثون عاما نشر خلالها العديد من البحوث الرامية إلى إثبات دورها خاصة كمضادات للأكسدة (Krinsky, 1971 and 2002) .

تذوب أشباه الكاروتين في الدهون وهي موجودة في الغشاء الثايلاكويدي للبلاستيدة منغمسة مع الصبغات الأخرى في معقد الهوائي . إن توزيع صبغات أشباه الكاروتين بين النظامين الضوئيين غير متساو حيث يحوي النظام الضوئي الأول PSI كمية أكبر من النظام الضوئي الثاني PSII لكن الأخير يحوي الليوتين ( Demmig-Adams and Adams 1992) . علاوة على مساهمة أشباه الكاروتين كصبغة مساعدة في البناء الضوئي فهي تساهم في الوقاية من الأكسدة الضوئية . هناك ما يقارب ٥٠٠ نوع تعرف الكيميائيون على وجودها طبيعياً انظر :

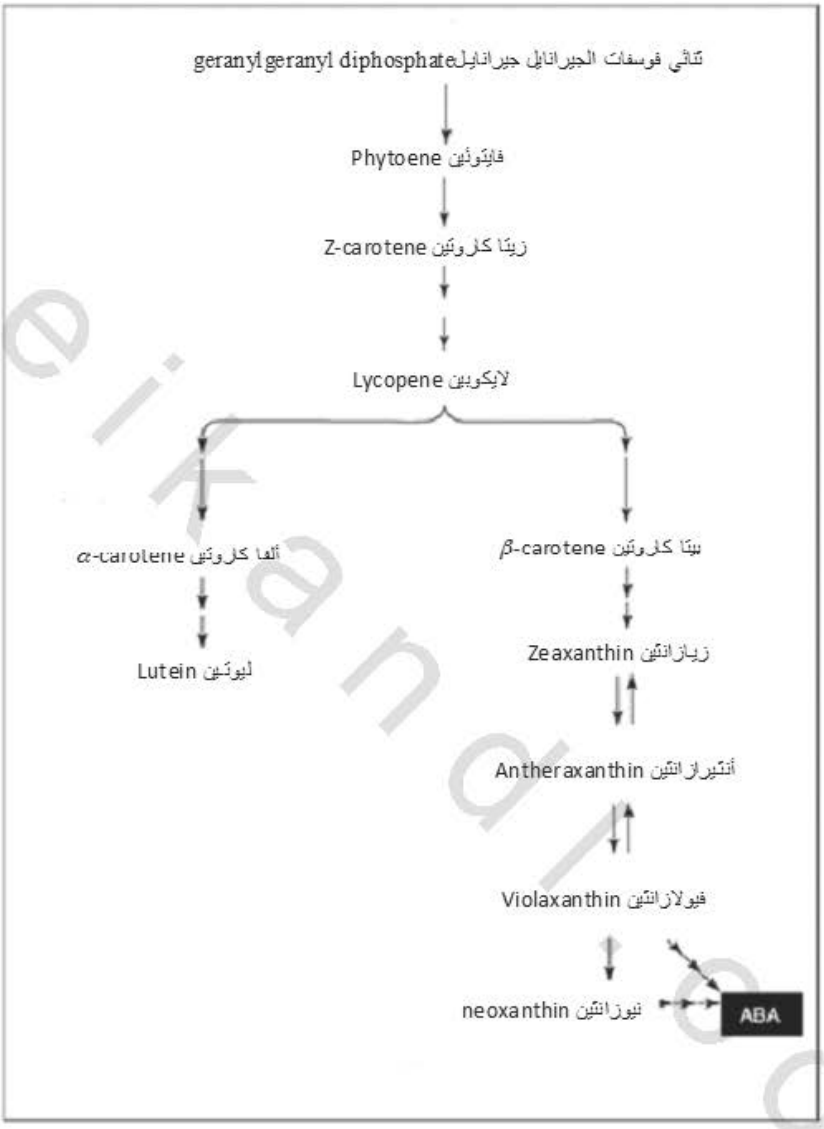
<http://science.jrank.org/pages/5303/Plant-Pigment-Carotenoids.html">Plant Pigment – Carotenoids>

لكن في تحديث من وزارة الزراعة الأمريكية ذكر أن هناك أكثر من ٦٠٠ نوع من أشباه الكاروتين (Holden, et al., 1999) . لقد ورد مثل هذا العدد من أشباه الكاروتينات علاوة على اكتشاف أنواع جديدة (Mercadante, 1999) . تعد أشباه االكاروتين أساساً هيدروكربونات يصنفها البعض مع أشباه التربين الرباعية tetraterpenoids إذ تحتوي جميعها على ٤٠ ذرة كربون ووحدة بنائها الأساسية هي وحدة الأيزوبرين isoprene الموضحة في الشكل رقم (٢,٧) .




**الشكل رقم (٢,٧) . التركيب الكيميائي لوحدة الأيزوبرين.**

يعد مسار بناء أشباه الكاروتين مساراً مهماً إذ يستمر منه بناء منظم النمو النباتي حمض الأبسيسيك abscisic acid-(ABA) وتشترك في المركب الوسطي بيروفوسفات جيرانايل الجيرانايل geranyl geranyl pyrophosphate (GGPP) مع مسارات بناء مركبات أيضية أخرى مثل حمض الجبريلين والكلوروفيلات وفيتامين هـ vitamin E والشكل رقم (٢,٨) يوضح الرسم التخطيطي المبسط لبناء أشباه الكاروتين (Tanaka and Ohmiya, 2008) .




**الشكل رقم (٢,٨) . رسم تخطيطي مبسط للمركبات الرئيسية في مسار بناء أشباه الكاروتين وللتبسيط أيضا لم تذكر الإنزيمات ويمكن الاطلاع عليها بمراجعة (Tanaka and Ohmiya, 2008) .**

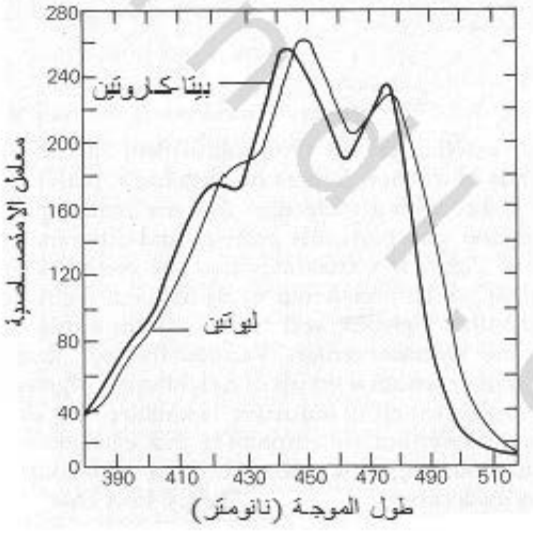
obeikandl.com

تعد أشباه الكاروتين في النباتات الراقية ذات تركيب متناسق وعددها قليل نسبيا (Demmig-Adams, et al., 1996) . تقسم أشباه الكاروتين كيميائياً إلى مجموعتين رئيسيتين :

١- الكاروتينات carotenes

٢- الزانثوفيلات xanthophylls حيث الأولي تتكون فقط من كربون وهيدروجين ، بينما الثانية تتكون من كربون وهيدروجين وأوكسيجين انظر الشكلين رقمي (٢,١٠) و (٢,١١) على التوالي .

تمتص أشباه الكاروتين -صبغات مساعدة في البناء الضوئي- الطاقة في مناطق ذات طول موجي مختلف عن تلك للصبغة الرئيسية (كلوروفيل أ) ويمكن مقارنة طيف الامتصاص للكلوروفيل في الشكل رقم (٢,٣) بطيف الامتصاص لأشباه الكاروتين في الشكل رقم (٢,٩) .



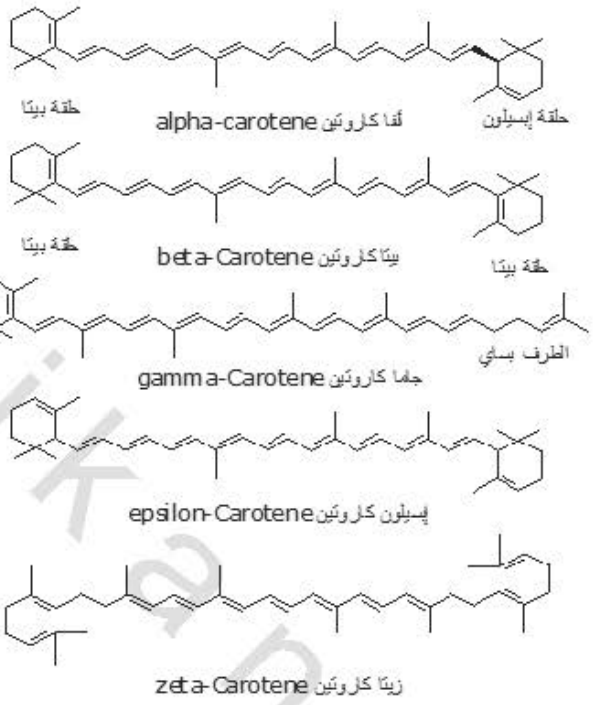

الشكل رقم (٢,٩).طيف الامتصاص لأشباه الكاروتين ، بيتا كاروتين مذابا في الهكسان واللوتين مذابا في الإيثانول .المصدر (بتصرف) : (Salisbury and Ross, 1978) بناء على بيانات آخرين .

## الكاروتينات

يلاحظ في الكائنات التي تبني الكاروتينات وجود عدد كبير من صبغات الكاروتين أو المركبات البادئة لها وتذكر ضمن الكاروتينات مثل زيتا كاروتين البادئ لبيتا كاروتين . قد يعود ذلك إلى أن التركيب الكيميائي عبارة عن سلسلة من الهيدروكربونات الأليفاتية غير المشبعة تنتهي في طرف بالحلقة المسماة بيتا β-ring والطرف الثاني بالحلقة إبسيلون ε-ring . ويسمح مثل هذا التركيب الكيميائي بتكوين أيزومرات (أشكال للمركب تتميز بالتماثل في نوع الذرات وعددها والاختلاف من حيث الترتيب و الخصائص) منها :

- ألفا كاروتين alpha-Carotene وحسب الحلقات يسمى بيتا ، إبسيلون كاروتين β,ε-carotene .
- بيتا- كاروتينbeta-Carotene وحسب الحلقات يسمى بيتا ، بيتا كاروتين β,β-carotene .
- جاما كاروتينgamma-Carotene وحسب الحلقات ففي هذا الكاروتين توجد حلقة بيتا والطرف الآخر غير حلقي ولذا يسمى بساي ψ ومنه فالمركب قد يسمى بيتا ، بساي كاروتين β,ψ-carotene .
- دلتا كاروتين delta-Carotene وحسب الحلقات يسمى إبسيلون ، بساي كاروتين ε,ψ-carotene .
- إبسيلون كاروتين epsilon-carotene وحسب الحلقات يسمى إبسيلون ، إبسيلون كاروتين ε,ε-carotene .

من أشهر الكاروتينات والمساهم كصبغة مساعدة في البناء الضوئي هو مركب بيتا-كاروتين β-carotene ذو الصيغة الكيميائية ($C_{40}H_{36}$) والتركيب موضح في الشكل رقم (٢,١٠) مع تركيب بعض الكاروتينات والتسمية بالحلقات .




**الشكل رقم (٢,١٠) . تركيب بعض الكاروتينات ووجود الحلقات وأسمائها ومنها بيتا كاروتين .**

**المصدر: مقتبس من:**

**http://www.chemicalland21.com/arokorhi/lifescience/foco/BETA-CAROTENE.htm**

تعد الصبغتان ألفا وبيتا كاروتين أساسيتان ويختلفان فقط في الرابطة الثنائية ومجموعة الحلقة الطرفية ولهذا سميت هذه الحلقة في هذا الطرف حلقة إبسيلون . تساهم الكاروتينات في اقتناص الطاقة وتمريرها إلى الصبغة الرئيسية حيث منطقة الامتصاص مختلفة عن منطقة امتصاص الصبغة الرئيسية ، فعلى سبيل المثال فإن صبغة بيتا كاروتين تمتص الطاقة ما بين الطول الموجي ٤٠٠ إلى ٧٠٠ نانومتر بأعلى قمم للامتصاص عند ٤٥٠ و ٤٧٠ و٧٨٠ نانومتر . انظر طيف الامتصاص في الشكل رقم (٢,٩) ، وكذلك العنوان :

http://icn2.umeche.maine.edu/genchemlabs/Chlorophyll/chlorobeta2.htm

توجد الكاروتينات في المملكة النباتية ، و تستطيع معظم الخلايا الحيوانية وخلايا الإنسان كسر الرابطة الثنائية في جزيء بيتا كاروتين إنزيميا لتكوين جزيئين من فيتامين أ والذي بأكسدته يتحول إلى ريتينال retinal وهي الصبغة المسئولة عن الرؤية . (Raven, et al., 1999)

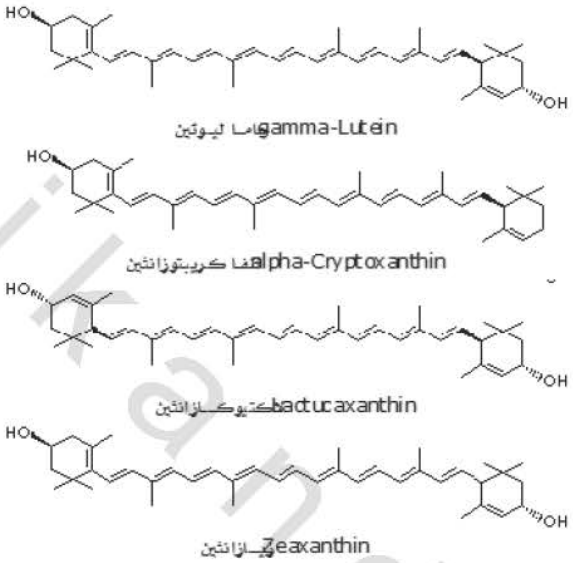
**الزانثوفيلات**

تشكل الزانثوفيلات مجموعة أخرى من أشباه الكاروتين حيث تختلف في التركيب بوجود ذرة أكسجين أو أكثر . ولعل أشهر الزانثوفيلات كصبغة مساعدة الليوتين lutein ذو الصيغة الكيميائية ($C_{40}H_{56}O_2$) وتركيبه موضح في الشكل رقم (٢,١١) ضمن زانثوفيلات أخرى .

تبنى الزانثوفيلات في البلاستيدات ولا يتطلب ذلك الإضاءة حيث توجد في جميع الأوراق النباتية الخضراء والشاحبة وهي ذات لون أصفر . تمتص الزانثوفيلات في غير المناطق التي يمتص بها كلوروفيل أ وبالتالي تزيد من اقتناص الطاقة الشمسية الكلية من الضوء المرئي في منطقة الأزرق والأخضر وتمريرها إلى كلوروفيل أ مما يساهم في ثبات معقد مركز الإقتناص (Siefermann-Harms, 1987) انظر الشكل رقم (٢,٩) حيث طيف امتصاص الليوتين .

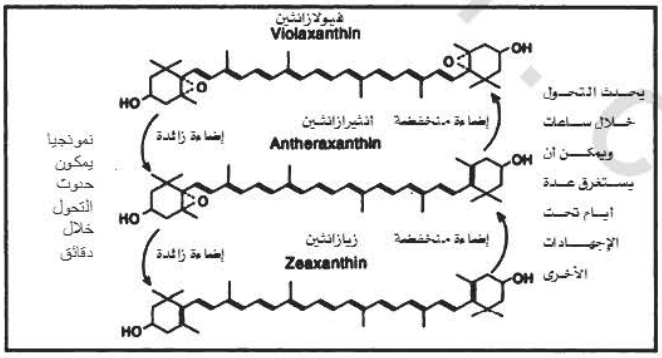
تتزايد الأدلة على مساهمة زانثوفيلات معينة في الوقاية من زيادة الإشعاعات الشمسية العالية وذلك عبر دورة الزانثوفيل xanthophyll cycle وهي تحولات إنزيمية بين أنواع من الزانثوفيلات (Demmig-Adams, 1990) حيث تجمع من أحد الزانثوفيلات وهو الفيولازانثين violaxanthin في الصباح الباكر يبدأ في التحول عبر زانثوفيل آخر هو أنثيرازانثين antheraxanthin إلى زانثوفيل الزيازانثين zeaxanthin بتدرج الزيادة في الاشعاعات الشمسية حيث عند قمة الاشعاع يكون معظم الزانثوفيلات على هيئة الزيازانثين. يقوم الزيازانثين بامتصاص الطاقة الزائدة عن طاقة الكلوروفيل وتبديدها

على هيئة حرارة. باستمرار الدورة وانخفاض شدة الاشعاعات الشمسية يعاد تحويل الزيازانثين إلى الفيولا زانثين استعدادا لليوم التالي. والشكل رقم (٢,١٢) يوضح التأرجح بين الزانثوفيلات في الدورة حسب الإضاءة والزمن .




**الشكل رقم (٢,١١). تركيب الليوتين وبعض الزانثوفيلات الأخرى .**

**المصدر : http://chemicalland21.com/lifescience/foco/BETA-CAROTENE.htm**




**الشكل رقم (٢,١٢). رسم تخطيطي لدورة الزانثوفيلات**

**المصدر (بتصرف) : (Demmig-Adams, et al., 1996)**

يتكون مركز التفاعل الضوئي الثاني Light harvesting Complex II; LHCII في النباتات في الأقل من أربعة بروتينات رئيسية تربط كلوروفيلي أ و ب . يمكن تقسيم البروتينات إلى الجزء الرئيسي الذي يشكل الكلوروفيل به ٦٥٪ من الاجمالي الموجود في النظام ويرمزله بالرمز LHCIIb ، أما المعقدات الأصغر فهي ثلاثة وكل واحد منها يحوي ٥٪ من اجمالي الكلوروفيل ويرمز لها بالرموز LHCIIa و LHCIIc و LHCIId (Peter and Thornber, 1991) . يشار إلى المعقدات الأصغر برموز أخرى هي على التوالي CP29 و CP26 و CP24 (Jansson et al., 1992) . والمعتقد أنه يتم التنسيق في معقد مركز التفاعل الثاني بين جزيئات الصبغات ؛ سبعة جزيئات لكلوروفيل أ وخمسة جزيئات من كلوروفيل ب و ٢-٣ من جزيئات أشباه الكاروتين (ليوتين ونيوزانثين وكمية من الفيولازانثين) حسب النمط الوراثي (Connelly, et al., 1997) أو الحالة الفسيولوجية للنبات (Verhoeven, et al., 1999) .

بالمثل لمركز التفاعل الضوئي الأول فمعقد الهوائي الجانبي LHCI يتكون من أربعة معقدات ابتدائية يرمز لها بالرموز LHCa1 إلى LHCa4 وتختلف فقط عن تلك في معقدات الهوائي الجانبية في مركز التفاعل الثاني في عدد الكلوروفيلات وموقعها وتوجيهها في المعقد والاختلاف أيضا فيما بينها (Gibasiewicz, *et al.*, 2005) . جميع المعقدات الابتدائية الأربعة بها ظاهرة الإنبعاث emission في درجات الحرارة المنخفضة بطول موجي نحو الأحمر (٧٣٣ نانومتر للمعقد LHCa4) مقارنة بمعقد مركز التفاعل الثاني (٦٨١ نامتر للمعقد LHCb) .

بالنسبة لموقع الزانثوفيلات في أغشية الثايلاكويد فقد عرف موقعين في البروتين الأحادي لمعقد اقتناص الطاقة في مركز التفاعل الثاني LHCII يمكن أن يحتلها الليوتين والألفة عالية High affinity أو فيولازانثين أو زيازانثين ويرمز للموقعين بالرموز (L1,L2)

حيث تتفاعل مع كلوروفيل أ بصورة أساسية . عرف أيضا في هذا البروتين موقع ثالث اختياري جدا لنيوزانثوفيل وتفاعل قوي مع كلوروفيل ب (Croce *et al.*, 1999) .

تحوي نباتات المحاصيل كمية كبيرة من تجمع بيتا- كاروتين وكمية أقل من الليوتين مقارنة بالنباتات الشجيرية والمعترشة (Demmig-Adams and Adams 1992) . تضيف الدراسة السابقة بان هناك بعض أشباه الكاروتينات النادرة ومحدودية وجودها في أنواع نباتية معينة ، والمثل على ذلك شبه الكاروتين لاكتيوكازانثين lactucaxanthin الموجود في نبات الشمس *Euonymus kiautschovicus* و الكربتوزانثين cryptoxanthin في البرتقال وغيره . أنظر الصفحة : http://www.astaxanthin.org/carotenoids.htm

## طرق التعرف على الكلوروفيلات وتقديرها

تقدر الصبغات النباتية عموما تقديراً نوعياً qualitative وكمياً quantitative ويستخدم لذلك عدة وسائل وأجهزة حسب الدقة المطلوبة . ومهما كان الهدف فإن البداية هي استخلاص الصبغات حيث تختلف في نوعية المذيب علاوة على اختلاف خصائص الصبغات حسب المادة المذيبة للصبغات . من الشائع استخدام المذيب العضوي الأسيتون (٨٠٪) لتقدير الكلوروفيلات (MacKinney, 1941) وهي طريقة تتطلب جهدا ووقتا . استخدم حديثا (Moran and Porath, 1980) المذيب العضوي ثنائي ميثيل الفورماميد N,N-dimethyleformaamide (DMF) وهو مركب تركيبه الكيميائي مشابه للأسيتون ويكفي غمر العينة ونقعها دون اللجوء إلى عمليات الطحن المتكررة عند الاستخلاص بالأسيتون مع مراعات استخدام أدوات زجاجية مناسبة وليس أدوات بلاستيكية.

تستخدم طرق الفصل اللوني العمودي column chromatography للتعرف عليها حسب اللون، فكلوروفيل أ يعطي لونا أخضر مزرق بينما يعطي كلوروفيل ب

لوناً أخضر مصفر. عند تقدير الكلوروفيلات كماً تستخدم معاملات إطفاء extinction coefficients ومعادلات التقدير باستخدام كل من المذيبين الأسيتون وثنائي ميثيل الفورماميد كما أوردها أحد البحوث (Inskeep and Bloom, 1984) واستخدام الامتصاص Absorption ($A$) عند الطول الموجي المحدد كالتالي :

| 80% Acetone | DMF |
|---|---|
| Chl b = $20.47A_{647} - 4.73A_{664.5}$ | Chl b = $20.70A_{647} - 4.62A_{664.5}$ |
| Chl a = $12.63A_{664.5} - 2.52A_{647}$ | Chl a = $12.70A_{664.5} - 2.79A_{647}$ |
| Total Chl = $17.95A_{647} + 7.90A_{664.5}$ | Total Chl = $17.90A_{647} + 8.08A_{664.5}$ |

obeikandl.com