

## UN NOUVEAU MODELE DES CENTRES PHOTOCHEMIQUES DU SYSTEME II\*

P. JOLIOT, G. BARBIERI et R. CHABAUD

Institut de Biologie Physico-Chimique, 13, rue Pierre et Marie Curie, Paris 5e, France

(Received 14 March 1969; in revised form 1 May 1969)

**Abstract**—The amount of oxygen evolved by *Chlorella* cells or by isolated chloroplasts has been measured after illumination by short saturating flashes. In all conditions, the amount of oxygen evolved by one flash is proportional to the fraction of the photochemical centers susceptible to produce oxygen.

If dark adapted algae or chloroplasts are illuminated by a serie of flashes, no oxygen is produced by the first flash. This phenomenon is related to the activation process.

If  $y_n$  is the amount of oxygen evolved by the  $n$ th flash of the sequence, it appears that the serie  $y_n$  shows large oscillations with a period 4. These oscillations are completely damped after 4-6 periods and the amount of oxygen evolved by a flash reaches a stationary value. For any value of  $n$ , the quantities  $y_n$  and  $y_{n+2}$  are linked by a recurrent relation which is the same for *Chlorella* cells and spinach chloroplasts. No relation can be found between the terms  $y_n$  and  $y_{(n+1)}$ .

The mathematical properties of the series  $y_n$  can be understood if one admits that a two memory process is involved in the photochemical reaction.

The results have been interpreted in terms of a new model of the System II photochemical centers. The main characteristics of this model are:

- (1) Each photochemical center includes two electron donors ( $Z$ ) and one electron acceptor ( $Q$ ).
- (2) The formation of one atom of oxygen requires a two quantum process corresponding to the transfer of two electrons from the same electron donor (first memory).
- (3) The photochemical center acts as a switch which connects alternately each donor to the acceptor (second memory). The switch process occurs after each photoact with an efficiency of about 85 per cent.

Other arguments in favor of this model are obtained from studies of the rate of oxygen production at the onset of a weak illumination.

### INTRODUCTION

LA FORMATION d'oxygène par des plantes chlorophylliennes implique une réaction photochimique, Système II selon la terminologie de Duysens [1], qui fournit l'énergie nécessaire à la décomposition de l'eau. Cette réaction est sensibilisée par une fraction de la chlorophylle *a* et par un certain nombre de pigments accessoires, essentiellement la chlorophylle *b* dans le cas des végétaux supérieurs.

En étudiant les cinétiques d'émission d'oxygène tout au début de la période d'illumination, l'un de nous a mis en évidence une phase d'activation de l'émission d'oxygène: la vitesse d'émission d'oxygène est nulle au début de la période d'illumination et n'atteint que progressivement sa valeur maximum. La durée de cette phase d'activation est inversement proportionnelle à l'intensité lumineuse. On peut en conclure que la réaction est limitée par la vitesse d'une étape photochimique tout au moins dans le domaine des faibles intensités lumineuses [2-4].

L'existence des phénomènes de stimulation de l'émission d'oxygène a été mise

\*Equipe de Recherche no. 16 du Centre National de la Recherche Scientifique.

récemment en évidence sur des algues ou des chloroplastes isolés préillumienés par deux éclairs électroniques saturants de très courte durée. Lorsque les algues ou les chloroplastes soumis à ce type de préillumination sont ensuite illuminés en lumière continue, on peut observer que durant une courte période transitoire, la vitesse d'émission d'oxygène atteint des valeurs presque deux fois plus élevées que les valeurs mesurées en régime stationnaire.

L'ensemble de ces phénomènes a été décrit dans un article[5] dont les conclusions essentielles sont les suivantes: (1) la formation d'un atome d'oxygène nécessite l'addition de l'effet de deux réactions photochimiques successives intervenant sur le même centre. Ces deux réactions ont le même spectre d'action (Système II) et les mêmes constantes de vitesse. Elles concernent toutes deux le donneur d'électrons de la réaction photochimique II, qui possède donc deux niveaux d'oxydation atteints successivement. (2) La réduction de l'accepteur d'électrons du Système II,  $Q$ , n'implique au contraire qu'une étape photochimique correspondant au transfert d'un seul électron. A chacune des deux étapes photochimiques nécessaires à l'oxydation complète du donneur d'électrons correspond le transfert d'un électron. Ces deux étapes sont séparées par une étape obscure; la réoxydation de l'accepteur d'électrons  $Q$ . Rappelons que le demi-temps de réoxydation de  $Q$  est de l'ordre de  $6 \cdot 10^{-4}$  sec [6].

Un modèle était proposé qui rendait compte d'une partie des faits expérimentaux (voir ci-après modèle no. 1), mais aucune interprétation satisfaisante n'avait pu être donnée des phénomènes de stimulation observée après une préillumination par deux éclairs.

Dans cet article, nous présenterons tout d'abord un certain nombre de résultats expérimentaux nouveaux concernant, d'une part, l'étude de l'émission d'oxygène due à une série d'éclairs électroniques d'intensité saturante et de très courte durée, d'autre part, l'étude des cinétiques d'émission d'oxygène mesurée en lumière modulée dans diverses conditions de préillumination.

La seconde partie de cet article sera consacrée à la présentation d'un modèle qui s'accorde de façon satisfaisante à l'ensemble des faits expérimentaux.

## 1. MATERIEL ET METHODES

1.1 Les expériences décrites dans cet article ont été effectuées sur des algues unicellulaires *Chlorella pyrenoidosa* cultivées en milieu de Knop en présence d'oligo-éléments (solutions A5 et B6 ARNON). Pendant les expériences, les algues étaient placées dans un tampon Phosphate 0,05 M (pH 6,4), KCl 0,1 M. Quelques expériences ont été effectuées sur des chloroplastes isolés à partir de feuilles d'épinards suivant la méthode décrite par Yamashita *et al.*[7]. Pendant les expériences, les chloroplastes étaient placés dans un tampon tris-HCl 0,05 M (pH 7,9), saccharose 0,4 M, KCl 0,1 M, NaCl 0,01 M, serumalbumine 9g/l.; l'accepteur d'électrons étant le NADP (0,0005 M) en présence de Ferredoxine. L'ensemble des expériences a été effectué à 20°C.

### 1.2 Mesure de la vitesse d'émission d'oxygène par des algues et des chloroplastes

Le principe de la méthode ampérométrique de mesure de la vitesse d'émission d'oxygène a déjà été décrit dans de précédents articles[8, 9]. La lumière excitatrice est modulée en intensité et seule la composante modulée du courant ampérométrique est détectée et amplifiée. Un certain nombre d'améliorations a été apporté à cette

technique. Tout d'abord, l'appareillage a été entièrement automatisé, ce qui était indispensable pour les expériences impliquant une préillumination par des éclairs électroniques. D'autre part, l'information apportée par le signal ampérométrique est directement analysée à l'aide d'un appareil multicanaux moyenné du type C.A.T. (T.M.C.). Cet appareil permet de convertir les données expérimentales sous une forme numérique et d'additionner algébriquement les résultats obtenus au cours d'expériences successives (élimination du bruit de fond). Généralement, la sommation de quatre expériences successives est suffisante pour atteindre un rapport bruit de fond/signal inférieur à 3%.

Le signal modulé est amplifié à l'aide d'un amplificateur à large bande CR4 (P.A.R.). La détection de la composante modulée et l'élimination de la composante continue sont effectuées directement au niveau du moyenné C.A.T. L'originalité du montage utilisé repose sur le fait que l'avance d'adresse (passage d'une mémoire à la suivante) est synchronisée par un signal de fréquence double de la fréquence de modulation de la lumière. Ce montage a permis d'améliorer sensiblement le temps de réponse de la méthode qui est maintenant inférieur à la période de modulation de la lumière, soit de 20 à 40 ms pour une fréquence de 25 Hz. De plus, il est possible d'éliminer totalement la perturbation du courant ampérométrique qui apparaît lorsqu'un éclair électronique est superposé à la faible illumination modulée. Le montage électronique sera décrit plus en détail dans une publication ultérieure.\*

### 1.3 Mesure de la quantité d'oxygène par un éclair électronique

Les éclairs électroniques sont émis par une lampe General Electric FT 230. La durée de l'éclair est d'environ  $10\mu\text{s}$  au tiers de l'intensité maximum et l'énergie de 7 J. Le faisceau lumineux est focalisé sur l'électrode de platine.

Le principe de la méthode de mesure de l'oxygène émis pendant un éclair a également été décrit antérieurement [9]. On emploie pour cette mesure la même chaîne de détection que pour les expériences en lumière modulée et les performances ont également été améliorées grâce à l'utilisation du moyenné C.A.T. Le rapport signal/bruit de fond est généralement suffisant pour que la sommation de plusieurs expériences ne soit pas nécessaire. Il est particulièrement aisé d'éliminer l'artefact dû à l'action directe de l'éclair sur les électrodes: l'impulsion de courant correspondant à l'artefact, traduite sous forme numérique, est systématiquement soustraite de l'impulsion correspondant à la somme des effets de l'artefact et de l'émission d'oxygène.

Pour des éclairs de même durée, on obtient un signal rigoureusement proportionnel à la quantité d'oxygène émise.

Rappelons que cette méthode est extrêmement sensible, mais qu'elle ne permet pas la mesure absolue des quantités d'oxygène. Un contrôle a été effectué à l'aide d'une électrode de concentration déjà décrite [3].

## 2. ETUDE DES QUANTITES D'OXYGENE EMISES PAR UNE SERIE D'ECLAIRS SUCCESSIFS

2.1 On sait que lorsque des algues unicellulaires ou des chloroplastes isolés sont illuminés par un éclair électronique de courte durée intervenant après une longue

\*Les dispositifs de commande de contrôle des appareils de mesure ont été réalisés par Monsieur B. Frilley que nous tenons à remercier ici.

période d'obscurité, aucune émission d'oxygène ne peut être détectée [2, 3, 10, 11]. Plus récemment [5] nous avons pu montrer que, dans le cas d'une série d'éclairs séparés par un intervalle d'obscurité inférieur à la seconde, la quantité d'oxygène émise sous l'effet du second éclair est relativement faible alors qu'au troisième éclair, elle est maximum et supérieure à celle qui est émise sous l'effet d'un éclair intervenant après une préillumination excitant préférentiellement le Système I.

L'étude de ce problème a été reprise d'une manière plus systématique dans le cas d'une longue série d'éclairs successifs. Soit  $y_n$  la quantité d'oxygène émise sous l'effet de l'éclair de rang  $n$  dans une telle série. Les suites  $y_n$  ont été étudiées pour des éclairs d'énergie saturante, séparées par un intervalle obscur  $\Delta t$  compris, selon les expériences, entre 0,1 et 1 sec.

La Fig. 1 représente une suite  $y_n$  obtenue sur des chloroplastes d'épinards conservés à l'obscurité pendant 5 min avant le début de l'expérience. L'intervalle  $\Delta t$  entre chaque

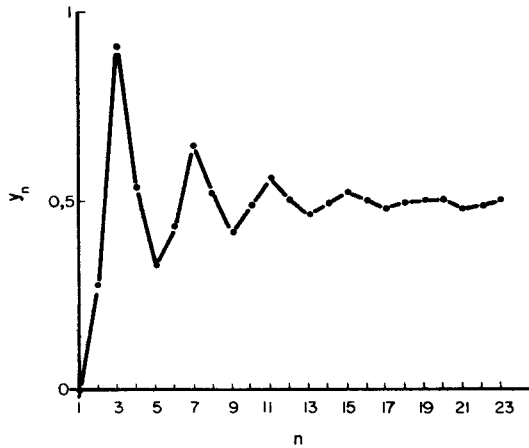


Fig. 1. Quantités d'oxygène émises par des chloroplastes d'épinards isolés, illuminés par une série d'éclairs électroniques d'intensité saturante après 5 mn d'obscurité; intervalle d'obscurité entre deux éclairs consécutifs:  $\Delta t = 300$  ms.  $n$  est le rang de l'éclair,  $y_n$  la quantité d'oxygène émise sous l'effet de cet éclair. Les quantités  $y_n$  ont été normalisées en posant la valeur stationnaire,  $y_{st}$ , égale à 0,5.

éclair était de 300 ms. Cette figure fait apparaître les propriétés remarquables des suites  $y_n$ , parfaitement reproductibles pour les différents matériels biologiques étudiés (algues unicellulaires ou chloroplastes d'épinards).

(1) On vérifie que la quantité d'oxygène émise par le premier éclair ( $y_1$ ) est nulle alors qu'elle est maximum pour le troisième éclair ( $y_3$ ).

(2) La suite  $y_n$  présente des oscillations dont la période est égale à 4. Ce résultat est absolument général; en particulier, il ne dépend pas des conditions de préillumination.

(3) Les oscillations de la série  $y_n$  s'amortissent progressivement:  $y_n$  tend vers une limite dont la valeur est indépendante des conditions initiales et de la nature du matériel biologique. Toutefois suivant le matériel biologique, les oscillations s'amortissent plus

ou moins rapidement. Dans le cas des algues unicellulaires (*Chlorella* ou *Chlamydomonas*), l'état stationnaire est atteint après 3 oscillations environ, dans le cas des chloroplastes isolés d'épinards, après 5 à 6 oscillations.

2.2 Les suites  $y_n$  ont été étudiées avec une électrode de concentration qui permet des mesures absolues de la quantité d'oxygène émise. Bien que l'électrode de concentration présente une sensibilité plus faible, les suites  $y_n$  ainsi obtenues présentent les mêmes caractéristiques que celles qui viennent d'être décrites.

Les quantités d'oxygène émises au troisième éclair  $y_3$  peuvent atteindre le 1/200 de la concentration totale de chlorophylle, c'est à dire une valeur nettement plus élevée que la quantité d'oxygène émise après une préillumination excitant préférentiellement le Système I.

### 2.3 Etude de la suite $y_n$ obtenue après une préillumination de courte durée en faible lumière

La Fig. 2 représente la suite  $y_n$  obtenue, avec des algues *Chlorella*, après une préillumination de 0,5 sec à 685 nm. L'intensité lumineuse a été ajustée afin que la durée de cette préillumination soit égale à la durée de la période d'activation. La suite

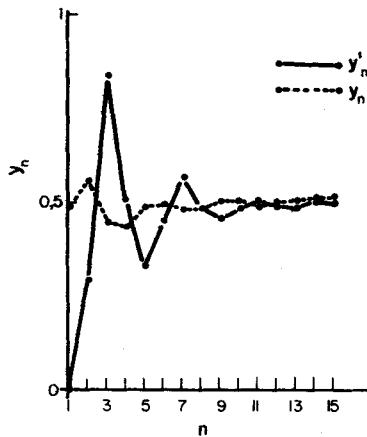


Fig. 2. Quantités d'oxygène émises par des algues *Chlorella* illuminées par une série d'éclairs électroniques d'intensité saturante; intervalle d'obscurité entre deux éclairs consécutifs:  $\Delta t = 300$  ms. Suite  $y_n$ : algues préilluminées par une lumière continue pendant 0,5 sec ( $\lambda \sim 685$  nm, éclairement  $\sim 2000$  erg/sec.  $\text{cm}^2$ ); la préillumination a cessé 100 ms avant le premier éclair. Suite  $y_n'$ : mêmes algues conservées à l'obscurité pendant 3 mn avant le premier éclair de la série.

$y_n'$  obtenue sur les mêmes algues après 3 min d'obscurité a été portée sur le même diagramme. On observe qu'après une préillumination continue, la suite  $y_n$  ne présente pas d'oscillations importantes.

Cette expérience démontre que ce ne sont pas les phénomènes d'induction qui provoquent les oscillations des suites  $y_n$ .

Rappelons que les phénomènes d'induction de la photosynthèse qui apparaissent en forte lumière continue ne sont pas modifiés d'une manière appréciable par une courte préillumination en faible lumière.

#### 2.4 Influence de l'intervalle d'obscurité $\Delta t$ séparant les éclairs électroniques successifs

Dans le cas des chloroplastes, les suites  $y_n$  sont identiques lorsque  $\Delta t$  est compris entre 100 ms et 1 sec. Dans le cas des algues, les suites  $y_n$  ne sont indépendantes du phénomène d'induction; des oscillations sont toujours visibles, mais la valeur de  $\Delta t$  est trop faible ( $\Delta t < 100$  ms) les suites  $y_n$  sont perturbées par l'intervention des phénomènes d'induction; des oscillations sont toujours visibles, mais la valeur moyenne des termes  $y_n$  diminue lorsque  $n$  augmente, d'autant plus rapidement que  $\Delta t$  est plus faible. Au contraire, lorsque la valeur de  $\Delta t$  est trop élevée, les suites  $y_n$  sont perturbées par l'intervention des phénomènes de désactivation qui seront étudiées plus loin.

De plus, toutes ces perturbations (induction et désactivation) influent sur la périodicité qui n'est plus rigoureusement égale à 4.

#### 2.5 Etude des suites $y_n$ après préillumination par un éclair électronique saturant

La suite  $y_n$  a été étudiée pour différentes valeurs de la période d'obscurité  $t_{\text{obs.}}$  séparant l'éclair de préillumination du premier éclair de la série.

Cette étude montre que la suite des termes de rang impair est inchangée lorsque  $t_{\text{obs.}}$  varie de 3 mn à 30 sec, alors que la suite des termes de rang pair est fortement modifiée. Ceci apparaît sur la Fig. 3 où, pour plus de clarté, les termes de rang impair et ceux de rang pair ont été portés sur des diagrammes distincts.

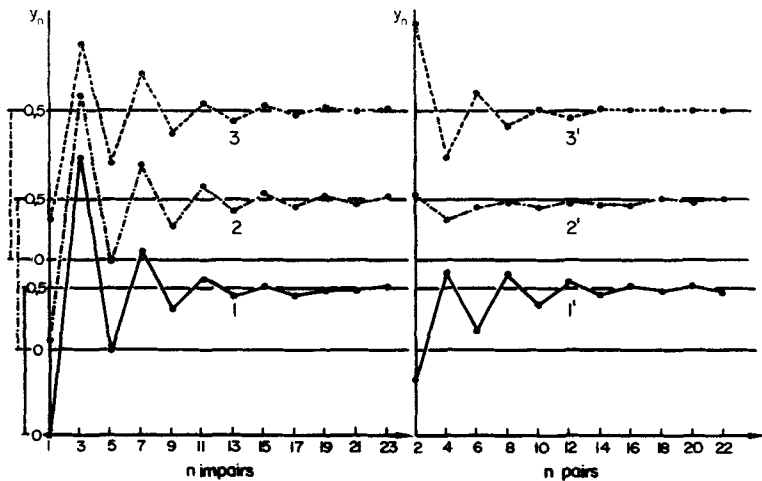


Fig. 3. Quantités d'oxygène émises par des algues *Chlorella* illuminées par une série d'éclairs électroniques d'intensité saturante. Pour plus de clarté les termes impairs et les termes pairs d'une même série ont été portés sur des diagrammes distincts. De plus les origines des diagrammes de chaque série (1', 2', 3',...) ont été décalées. Les conditions initiales des séries d'éclairs étaient les suivantes: diagramme 1 et 1': un éclair électronique saturant suivi de 3 mn d'obscurité; diagramme 2 et 2': un éclair électronique saturant suivi de 20 sec d'obscurité; diagramme 3 et 3': un éclair électronique saturant suivi de 2,5 sec d'obscurité.

En fait, il s'agit là d'une propriété essentielle des suites  $y_n$ : si un terme  $y_n$ ,  $n$  étant quelconque, est inférieur à  $y_{st}$ ,  $y_{n+2}$  est supérieur à  $y_{st}$ ; au contraire, si  $y_n$  est supérieur à  $y_{st}$ ,  $y_{n+2}$  est inférieur à  $y_{st}$ .

Dans le cas particulier où  $y_n = y_{st}$ , tous les termes  $y_{n+2}$ ,  $y_{n+4}$ , etc... sont aussi égaux à  $y_{st}$ . Des illustrations de ce cas particulier sont données par la suite des termes de rang pair du diagramme 2' de la Fig. 3, et par l'ensemble de la suite (termes de rang pair et impair) de la Fig. 2 obtenue après une préillumination de lumière continue.

Par contre, aucune relation, même qualitative, ne peut être établie entre deux termes consécutifs  $y_n$  et  $y_{n+1}$ .

2.6 Pour exprimer sous forme quantitative la propriété qui vient d'être décrite, nous avons représenté sur la Fig. 4 les variations de la grandeur  $\Delta = (y_{n+2} - y_n)$  en fonction de la valeur  $y_n$ .  $\Delta$  peut être positive ou négative et donne une mesure de l'amplitude des oscillations. Les points expérimentaux de la Fig. 4 ont été calculés à partir de nombreuses suites  $y_n$ , obtenues dans différentes conditions de préillumination, sur algues et sur chloroplastes.

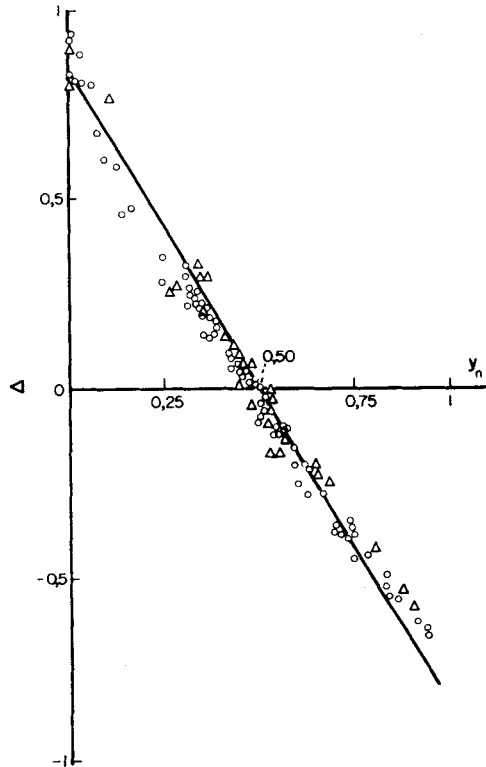


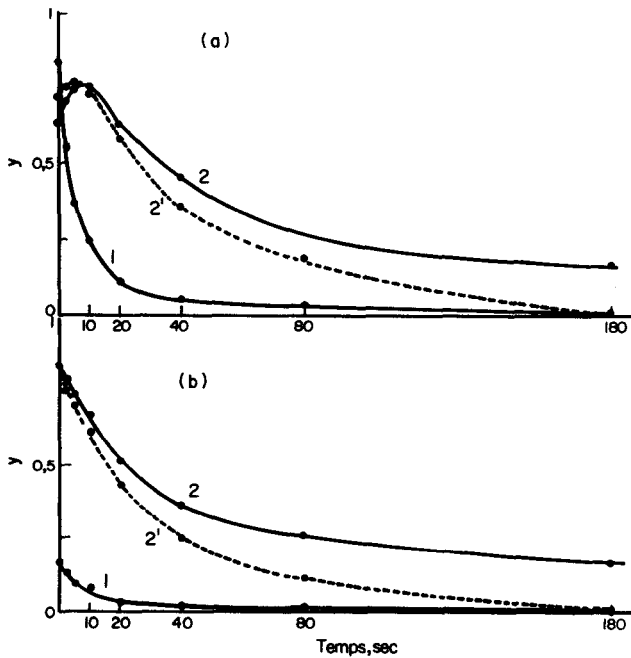
Fig. 4. Diagramme exprimant la relation de récurrence entre la quantité d'oxygène  $y_n$  émise au cours d'une série d'éclairs électroniques, par l'éclair de rang  $n$  et la quantité  $y_{n+2}$  émise par l'éclair de rang  $(n+2)$ . L'ordonnée  $\Delta$  est égale à  $y_{n+2} - y_n$ .  $\Delta$  Chloroplastes d'épinards isolés.  $\circ$  Algues Chlorella.

Afin d'éliminer l'effet d'éventuelles variations de sensibilité de l'appareil, les valeurs de  $y_n$  ont été normalisées par rapport à la valeur  $y_{st}$  de la même suite et nous avons posé  $y_{st} = 0,5$  afin de rendre plus aisée la comparaison avec les calculs théoriques qui seront développés plus loin. Les points expérimentaux se placent approximativement sur une droite qui définit une relation de récurrence entre un éclair de rang  $n$  et l'éclair de rang  $(n + 2)$ .

### 2.7 Variations des quantités $y_1$ et $y_2$ en fonction de la période d'obscurité précédant le premier éclair

Les courbes de la Fig. 5 ont été tracées à partir des expériences portant sur des chlorelles préilluminées par un ou deux éclairs électroniques, les éclairs  $y_1$  et  $y_2$  n'intervenant qu'après une durée d'obscurité  $t_{obs.}$  variable. Ces résultats donnent une mesure de la vitesse de désactivation du complexe photochimique: la quantité  $y_1$  décroît beaucoup plus vite que la quantité  $y_2$ . Cette dernière n'atteint une valeur minimum qu'après 3 min d'obscurité.

Dans le cas des chloroplastes isolés, la vitesse de désactivation est considérablement plus faible.



Figs. 5(a, b). Quantités d'oxygène  $y_1$  et  $y_2$  émises par des algues *Chlorella* sous l'effet de deux éclairs électroniques saturants successifs. Les algues sont préilluminées, soit par un éclair (Fig. 5(b)), soit par deux éclairs séparés par un intervalle d'obscurité de 100 ms (Fig. 5(a)). Après une période d'obscurité  $t_{obs.}$  les algues sont alors illuminées par deux éclairs séparés par un intervalle obscur de 300 ms. Ces deux éclairs donnent lieu à l'émission des quantités d'oxygène  $y_1$  et  $y_2$ . Courbes 1:  $y_1 = f(t_{obs.})$  Courbes 2:  $y_2 = f(t_{obs.})$  Courbes 2': Variations de la quantité  $x_2(t_0) + x_4(t_0)$ , concentration des donneurs  $Z^+$  'non liés' au moment de l'éclair donnant  $y_1$ , en fonction de  $t_{obs.}$  (voir texte, Paragraphe 5.2.).



### 3. ETUDE DES CINÉTIQUES INITIALES D'ÉMISSION D'OXYGÈNE PAR DES ALGUES SOUMISES À UNE ILLUMINATION DE FAIBLE INTENSITÉ

3.1 Les cinétiques initiales d'émission d'oxygène après préillumination par 0, 1 ou 2 éclairs ont déjà été décrites dans un article précédent[5]. Cette étude a été reprise avec plus de précision grâce à l'amélioration des techniques de détection de l'émission d'oxygène. Nous discuterons les courbes présentées sur les Figs. 6(a) et 6(b) et qui ont été obtenues dans des conditions de préillumination précisées dans la légende. Les courbes 1 et 4 font apparaître le phénomène d'activation photochimique du Système II. La courbe 1 présente tout au début de l'illumination un point d'inflexion caractéristique. On peut observer également que la durée de la période d'activation est nettement plus courte après 20 sec d'obscurité (courbe 4) qu'après 70 sec d'obscurité (courbe 1) bien que, dans les deux cas, les vitesses initiales d'émission d'oxygène soient pratiquement nulles.

Dans le cas des courbes 2 et 5 (un éclair de préillumination), il ne subsiste qu'une phase d'activation extrêmement courte suivie d'une période de stimulation. La vitesse initiale d'émission d'oxygène n'est jamais nulle.

Dans le cas des courbes 3 et 6 (deux éclairs de préillumination), on observe une très forte stimulation de la vitesse d'émission d'oxygène.

Les expériences antérieures[5] ont montré que dans le domaine des faibles intensités lumineuses, ces trois types de cinétiques présentent un caractère strictement photochimique.

Afin de permettre les comparaisons qui seront nécessaires lors de l'analyse théorique de ces résultats, l'effet d'une série d'éclairs a été étudié sur les mêmes algues; le tableau suivant donne les premiers termes de la suite  $y_n$  obtenue après 20 sec d'obscurité et ceux de la suite  $y'_n$  obtenue après 70 sec d'obscurité.

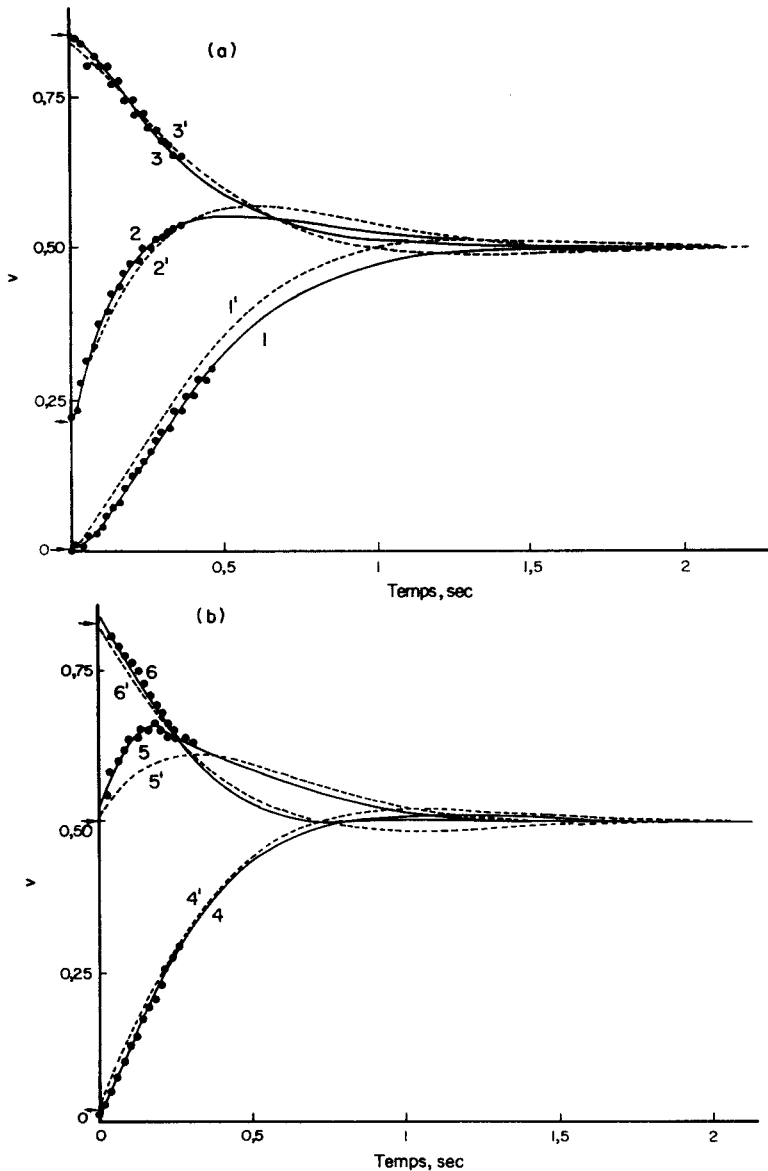
Tableau 1

	$y_1$	$y_2$	$y_3$
Suite $y_n$	0,00	0,22	0,84
Suite $y'_n$	0,03	0,51	0,85

### 3.2 Etude de la désactivation du Système II après une préillumination en lumière continue

Au cours d'expériences préliminaires, la vitesse initiale d'émission d'oxygène a été mesurée en fonction de la durée de la période d'obscurité précédant le début de l'illumination détectrice. Dans ces expériences les algues étaient préilluminées pendant 3 min par une lumière continue de faible intensité. Il est apparu que la cinétique de décroissance de la vitesse initiale dépendait de la longueur d'onde de la lumière de préillumination. Ainsi après une préillumination à 700 nm, le demi-temps de la cinétique de décroissance de la vitesse initiale (désactivation) est égal à 6 sec, alors qu'il n'est que de 1,5 sec après une préillumination à 650 nm. Les intensités des lumières de préillumination avaient été ajustées afin que les valeurs stationnaires de la vitesse d'émission d'oxygène soient égales.

On peut en conclure que la vitesse de désactivation est une fonction croissante de la concentration de la forme réduite de l'accepteur d'électrons  $Q$  du Système Photochimique II.



Figs. 6(a, b). Cinétiques d'émission d'oxygène obtenues avec des algues *Chlorella* soumises à une illumination de lumière modulée et de faible intensité ( $\lambda \sim 685$  nm, éclairement  $700 \text{ erg/sec} \cdot \text{cm}^2$ , fréquence de modulation: 25 Hz). L'instant  $t = 0$  correspond à l'ouverture du faisceau modulé et les premiers points expérimentaux correspondent au contenu des mémoires du moyenneur C.A.T. utilisé. Les valeurs ont été normalisées en posant la valeur stationnaire de la vitesse,  $v_{st}$ , égale à 0,5. Courbe 1: Algues préilluminées 30 sec, puis placées à l'obscurité pendant 70 sec avant le temps zéro. Courbe 2: Mêmes conditions que la courbe 1, de plus un éclair électronique est intercalé 20 ms avant l'instant  $t = 0$ . Courbe 3: Mêmes conditions que la courbe 1, de plus deux éclairs électroniques sont intercalés 200 ms et 20 ms avant l'instant  $t = 0$ . Courbe 4: Algues préilluminées 30 sec, puis placées à l'obscurité pendant 20 sec avant le temps zéro. Courbe 5: Mêmes conditions que la courbe 4, de plus un éclair électronique est intercalé 20 ms avant l'instant  $t = 0$ . Courbe 6: Mêmes conditions que la courbe 4, de plus deux éclairs électroniques sont intercalés 200 ms et 20 ms avant l'instant  $t = 0$ . La préillumination est de même longueur d'onde et de même intensité que la lumière de détection. Les valeurs de la vitesse portées sur les courbes 1', 2', 3', 4', 5' et 6' sont calculées à l'aide d'équations théoriques du modèle no. 4. (voir texte, Paragraphe 6.2).

## 4. MODELES THEORIQUES

Pour interpréter l'ensemble des résultats expérimentaux, nous considérerons successivement quatre modèles théoriques.

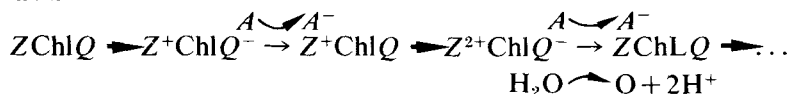
Nous examinerons d'abord comment chacun de ces modèles s'applique au cas d'une série d'éclairs.

Nous admettons que les éclairs d'une série ont les propriétés suivantes:—leur intensité est saturante, c'est-à-dire que tous les centres photochimiques participent à la réaction;—leur durée est suffisamment courte pour qu'un seul électron soit transféré au niveau de chaque centre photochimique;—l'intervalle entre deux éclairs est assez grand pour qu'au moment précédant chaque éclair, tous les accepteurs d'électrons  $Q$  soient à l'état oxydé; les phénomènes d'induction sont négligés;—on néglige également l'effet des réactions de désactivation pendant l'intervalle de temps séparant deux éclairs.

Enfin, nous nous placerons dans le cas particulier où la quantité d'oxygène émise par le premier éclair de la série  $y_1$  est nulle.

4.1 *Modèle no. 1*

Il s'agit là du modèle à deux quanta que nous avons déjà proposé antérieurement[5]. Dans le schéma suivant, les réactions photochimiques sont indiquées par les flèches en trait fort.



Dans des articles antérieurs[2-4] le complexe photochimique était désigné par la lettre  $E$ . Nous avons été conduit à abandonner cette notation afin de distinguer le donneur  $Z$  de l'accepteur  $Q$ . Dans le schéma ci-dessus, la forme  $(ZChlQ)$  est équivalente à la forme 'inactive'  $E_i$ .

Remarquons tout d'abord que le donneur d'électrons  $Z$  peut être une molécule d'eau, auquel cas la forme intermédiaire  $Z^+$  correspondrait à un radical  $(OH)$  stabilisé.

Le modèle no. 1 ne peut rendre compte d'une manière satisfaisante de l'ensemble des faits expérimentaux; en particulier, si le terme  $y_1$  est nul, les termes de la suite  $y_n$  seront alternativement nuls pour les éclairs de rang impair et maximums pour les éclairs de rang pair (Fig. 7). Dans le cas du troisième éclair, la contradiction avec les résultats expérimentaux (Fig. 1) est particulièrement flagrante. Une autre contradiction, d'ordre quantitatif, entre les prévisions théoriques du modèle no. 1 et les résultats expérimentaux a été mise en évidence et discutée dans les travaux antérieurs[2, 5], (comparaison du déficit d'émission d'oxygène dû à l'activation et de la quantité d'oxygène émise par un éclair). Dans un modèle à deux quanta, il est

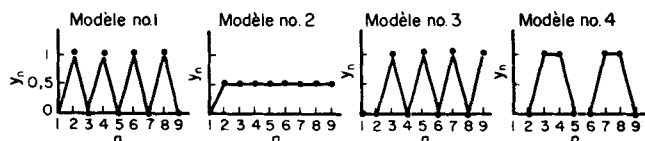


Fig. 7. Valeurs théoriques des quantités d'oxygène  $y_n$  émises sous l'effet d'une série d'éclairs dans le cas des modèles 1, 2, 3 et 4, pour des conditions initiales telles que  $(y_1 = 0)$ .

possible de surmonter cette contradiction en admettant que la concentration du donneur d'électrons  $Z$  est deux fois plus élevée que la concentration de l'accepteur  $Q$ . C'est pourquoi les trois modèles suivants comportent cette hypothèse.

4.2 Différentes représentations structurales peuvent être données d'un modèle où deux  $Z$  et un  $Q$  sont associés à un centre photochimique. Dans le suite de l'exposé des modèles, on suppose que les deux donneurs sont les éléments d'un centre photochimique de structure complexe, c'est-à-dire qu'ils ne diffusent pas dans le système. Pour traduire de fait qu'au cours de l'acte photochimique un seul des deux  $Z$  est susceptible de transférer un électron à l'accepteur  $Q$ , on admet, qu'à un instant donné, l'une des liaisons  $Z-Q$  est privilégiée par rapport à l'autre.

Pour simplifier l'écriture, nous ne représenterons pas les réactions de réoxydation de l'accepteur  $Q$ ; les centres seront désignés par  $(Z, Z)$ ; le point indique la position de la liaison privilégiée. Cette indication est purement formelle et ne préjuge pas de la nature de la liaison; elle n'est d'ailleurs significative que pour les états 'mixtes',  $(Z, Z^+)$  et  $(Z, Z^-)$ .

On distingue donc dans cette représentation quatre formes du centre photochimique dont nous désignerons les concentrations relatives à un instant donné par  $x_1$  pour  $(Z, Z)$ ,  $x_2$  pour  $(Z, Z^+)$ ,  $x_3$  pour  $(Z, Z^-)$ ,  $x_4$  pour  $(Z^+, Z^+)$ .

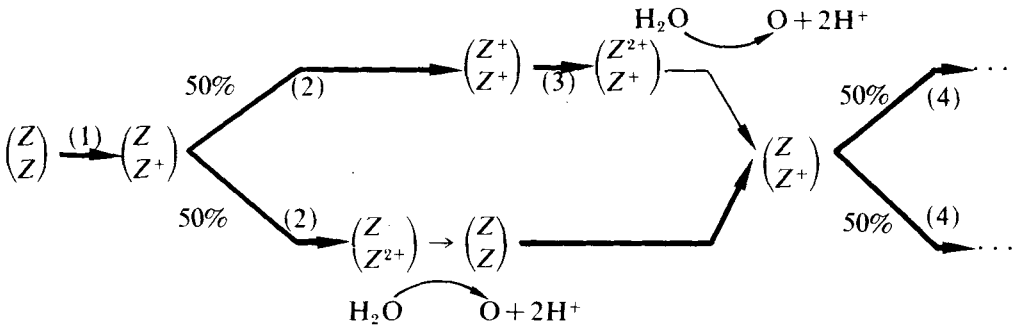
Dans le cas d'une illumination continue, les concentrations  $x_i$  sont des fonctions continues du temps,  $x_{i(t)}$ , les conditions initiales étant  $x_{i(0)}$ . Au contraire, dans le cas d'un éclair, les concentrations  $x_i$  varient de façon discrète. Au cours d'une série d'éclairs, nous désignerons par  $x_i$  l'état du système avant le  $n$ ème éclair. L'état initial s'écrit donc  $x_{i(0)}$ . L'effet du  $n$ ème éclair est de provoquer une transition de l'état  $x_{i(n-1)}$  à l'état  $x_{i(n)}$  et de produire une quantité d'oxygène  $y_n$  égale à  $[x_{3(n-1)} + x_{4(n-1)}]$  puisque seules les formes  $(ZZ^+)$  et  $(Z^+Z^+)$  comportent un donneur susceptible de passer à l'état  $Z^{2+}$  qui contribue à l'émission d'oxygène. Le cas particulier  $y_1 = 0$ , envisagé pour confronter les divers modèles, ne correspond pas à un état initial unique, mais à tous les états initiaux tels que  $[x_{3(0)} + x_{4(0)}] = 0$ , soit  $[x_{1(0)} + x_{2(0)}] = 1$ . Nous raisonnerons sur le cas où  $x_{1(0)} = 1$ ,  $x_{2(0)} = 0$ .

Les trois modèles suivants se distinguent par les lois qui régissent la permutation de la liaison privilégiée entre les deux donneurs d'un centre photochimique, c'est-à-dire, dans le cas des séries d'éclairs, par les règles de transition de  $x_{1(n)}$  à  $x_{1(n-1)}$ .

#### 4.3 *Modèle no. 2*

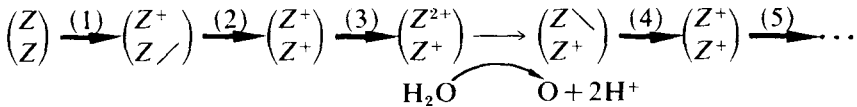
On admet que la position de la liaison n'est pas influencée par l'état du donneur d'électrons (état  $Z$  ou  $Z^+$ ) et que la liaison change de position d'une manière aléatoire, ces échanges étant rapides par rapport à la durée d'obscurité qui sépare deux éclairs. Au moment de la réaction photochimique, la liaison privilégiée a donc une chance égale d'occuper l'une des deux positions possibles et, pour cette raison, elle n'a pas été représentée sur le schéma suivant (les chiffres portés sur les flèches en trait fort qui représentent les réactions photochimiques indiquent le rang de l'éclair).

L'état du système avant le quatrième éclair est identique à l'état qui précède le second éclair. De plus, le second et le troisième éclair produisent des quantités d'oxygène égales: la série est donc stationnaire à partir de  $n = 2$  (Fig. 7). Malgré le progrès que constitue l'introduction du couple de donneurs par centre, on ne peut rendre compte de la stimulation de production d'oxygène qui s'observe après deux éclairs.



4.4 *Modèle no. 3*

Nous supposons maintenant que la position de la liaison privilégiée est influencée par l'état des donneurs d'électrons (état  $Z$  ou  $Z^+$ ). Dans le cas extrême où la probabilité d'une liaison privilégiée de type  $(Z-Q)$  est infiniment plus grande que la probabilité d'une liaison  $(Z^+-Q)$ , il n'existe à aucun moment de centres sous la forme  $(Z, Z^+)$  et la séquence des réactions est la suivante:

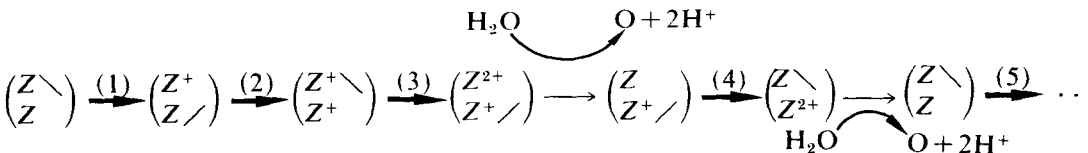


Les quantités d'oxygène émises par le premier et le second éclair seront nulles; à partir du troisième éclair, les quantités émises seront alternativement maximums et nulles (Fig. 7). Ce modèle rend compte de l'accumulation de donneurs  $Z^+$  après deux éclairs mais la périodicité des oscillations est égale à 2; un terme  $y_n$  de valeur élevée est toujours suivi d'un terme  $y_{(n+1)}$  de valeur faible. Rappelons que la périodicité observée expérimentalement est égale à quatre, et que l'on peut obtenir par exemple une valeur élevée, largement supérieure à la moyenne pour les termes  $y_3$  et  $y_4$  d'une même suite (Fig. 1).

4.5 *Modèle no. 4*

Nous considérons maintenant le cas où le changement de position de la liaison privilégiée est une conséquence directe de l'acte photochimique lui-même, c'est-à-dire qu'il ne dépend pas, comme dans le cas du modèle no. 3, de l'état d'oxydo-réduction des donneurs  $Z$ . Ce modèle est donc défini ainsi: les états  $Z$  et  $Z^+$  jouent un rôle identique dans l'affectation de la liaison privilégiée (le modèle no. 2 comportait la même hypothèse); après le transfert d'électrons consécutifs à l'absorption d'un photon par le centre photochimique, la liaison privilégiée change de position; le complexe photochimique fonctionne comme un commutateur connectant successivement chacun des deux donneurs d'électrons à l'accepteur  $Q$ .

Lors d'une série d'éclairs, la séquence des réactions est la suivante



L'état du système avant le 5ème éclair est identique à l'état du système avant le 1er éclair. La suite  $y_n$  présente donc une périodicité égale à 4 (Fig. 7) conforme aux résultats expérimentaux. Par contre, et quelles que soient les conditions initiales, les oscillations ne sont pas amorties.

Nous allons montrer qu'une imperfection de la commutation introduit un amortissement qui rend le modèle cohérent avec l'ensemble des faits expérimentaux. Nous désignerons par  $p$  la probabilité pour que la liaison privilégiée commute d'un donneur à l'autre après une réaction photochimique,  $(1-p)$  étant la probabilité pour que la liaison reste dans le même position.

En tenant compte de tous les changements d'espèces possibles, on décrit le transition provoquée par le  $n$ ème éclair d'une série par l'ensemble des relations de récurrence suivant:

$$\begin{aligned}x_{1(n)} &= x_{3(n-1)} \\x_{2(n)} &= px_{1(n-1)} + (1-p)x_{4(n-1)} \\x_{3(n)} &= (1-p)x_{1(n-1)} + px_{4(n-1)} \\x_{4(n)} &= x_{2(n-1)}\end{aligned}$$

En écrivant les mêmes relations pour la transition  $x_{i(n)} \rightarrow x_{i(n+1)}$

$$\begin{aligned}x_{3(n+1)} &= (1-p)x_{1(n)} + px_{4(n)} = (1-p)x_{3(n-1)} + px_{2(n-1)} \\x_{4(n+1)} &= x_{2(n)} = px_{1(n-1)} + (1-p)x_{4(n-1)}\end{aligned}$$

il vient, puisque  $y_n = x_{3(n-1)} + x_{4(n-1)}$

$$y_{n+2} = p[x_{1(n-1)} + x_{2(n-1)} + x_{3(n-1)} + x_{4(n-1)}] - (2p-1)[x_{3(n-1)} + x_{4(n-1)}]$$

soit:  $y_{n+2} = p - (2p-1)y_n$ , c'est-à-dire:  $\Delta_{(y_n)} = y_{n+2} - y_n = p - 2py_n$

Quand la valeur stationnaire est atteinte, on a:  $y_{n+2} = y_n = y_{st}$ , soit  $\Delta = 0$ , d'où  $y_{st} = 0,5$ .

L'expression donnant  $\Delta_{(y_n)}$  traduit exactement la propriété de récurrence observée en portant les valeurs expérimentales de  $\Delta$  en fonction de  $y_n$  (Fig. 4). La droite sur laquelle se placent approximativement les points expérimentaux a pour équation:  $\Delta = 0,84 - (1,8)y_n$ . On en déduit, par la pente et l'ordonnée à l'origine:  $p = 0,84 \pm 0,09$ .

## 5. PROPRIETES THEORIQUES DES SUITES $y_n$ ET COMPARAISON AVEC L'EXPERIENCE

5.1 Dans les conditions initiales  $x_{i(0)}$  les plus générales, les deux premiers termes sont donnés par les relations suivantes:

$$y_1 = x_{3(0)} + x_{4(0)}; y_2 = x_{3(1)} + x_{4(1)} = (1-p)x_{1(0)} + x_{2(0)} + px_{4(0)}$$

et on en déduit les autres termes  $y_n$  à l'aide de la relation de récurrence. En considérant une fois de plus les conditions initiales suivantes, où tous les centres sont dans l'état ( $Z, Z$ ):  $x_{1(0)} = 1$ ,  $x_{2(0)} = x_{3(0)} = x_{4(0)} = 0$ , nous avons calculé et représenté graphiquement les suites  $y_n$  correspondant à diverses valeurs de  $p$  (Fig. 8).

Cette construction fait apparaître un accord qualitatif entre les valeurs théoriques

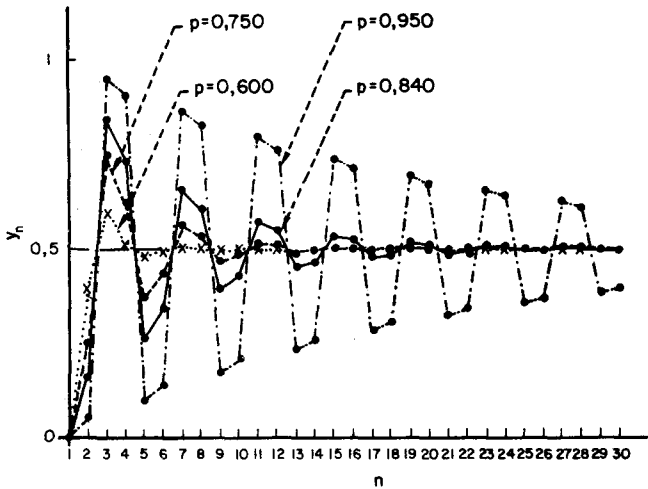


Fig. 8. Valeurs théoriques des quantités d'oxygène  $y_n$  émises sous l'effet d'une série d'éclairs dans le cas du modèle no. 4 pour différentes valeurs de  $p$  (probabilité de commutation), pour les conditions initiales suivantes:  $x_{1(0)} = 1, x_{2(0)} = x_{3(0)} = x_{4(0)} = 0$ .

correspondant à  $p \approx 0$  et les résultats expérimentaux obtenus lorsque la série d'éclairs intervient après une période d'obscurité assez longue (voir Figs. 1 et 2). De plus, elle montre comment l'imperfection de la commutation introduit un type de désordre très particulier, qui ne modifie pas la périodicité des oscillations.

D'autres facteurs de désordre peuvent être envisagés: les réactions de désactivation, l'induction de la photosynthèse ou encore une intensité non saturante des éclairs. Le calcul théorique montre que ces facteurs ont pour effet d'amortir les oscillations, mais simultanément de perturber leur périodicité. On peut d'ailleurs vérifier expérimentalement que l'intervention de ces différents facteurs de désordre provoque un amortissement plus rapide accompagné de défauts dans la périodicité des suites  $y_n$ .

### 5.2 Détermination des concentrations initiales $x_{i(0)}$ et étude de la désactivation

Le calcul des concentrations initiales  $x_{i(0)}$  d'une série d'éclairs à partir des valeurs expérimentales de  $y_n$  se heurte en général à l'impossibilité suivante: on ne dispose que de 3 équations pour 4 inconnues. On a, en effet:

$$x_{1(0)} + x_{2(0)} + x_{3(0)} + x_{4(0)} = 1$$

$$y_1 = x_{3(0)} + x_{4(0)}$$

et:

$$y_2 = (1-p)x_{1(0)} + x_{2(0)} + px_{4(0)}$$

(tout autre couple de termes impair et pair conduirait aux mêmes équations du fait de la relation de récurrence).

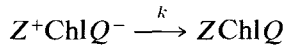
Pendant, on peut toujours calculer, à partir de ces équations, les quantités suivantes:  $[x_{3(0)} + x_{4(0)}]$ , somme des donneurs  $Z^+$  affectés d'une liaison privilégiée qui est égale à  $y_1$ .  $[x_{2(0)} + x_{4(0)}]$ , somme des donneurs  $Z^+$  non affectés d'une liaison privilé-

giée, qui est donnée par l'expression suivante:  $1/p [y_2 - (1 - y_1)(1 - p)]$ .

Pour abrégé, nous parlerons dans la suite de  $Z^+$  'liés' et 'non liés'. Le calcul de ces quantités a été effectué à partir des données expérimentales des Figs. 5(a) et 5(b). Les résultats du calcul ont été portés sur les mêmes figures (courbes 1 et 2'): ils donnent une description de la désactivation du système à l'obscurité définie comme le processus de disparition des donneurs  $Z^+$  'liés' et 'non liés'.

On constate que, tout au moins pour les algues, les  $Z^+$  liés se désactivent plus rapidement que les  $Z^+$  non liés; après un éclair de préillumination, par exemple, les  $Z^+$  liés ont pratiquement disparu au bout de 40 secondes, alors que la disparition complète des  $Z^+$  non liés exige environ 3 min. Ces expériences apportent donc la confirmation qu'il existe deux états distincts pour les donneurs  $Z^+$ .

Nous avons indiqué par ailleurs (Paragraphe 3.2) que la vitesse de désactivation dépend de la concentration de la forme réduite de l'accepteur  $Q$ . Sur cette base, la désactivation peut être interprétée comme la réaction inverse de la réaction photochimique:



Rappelons que la présence d'une faible concentration de  $Q^-$  après la période d'activation en faible lumière ou après un ou deux éclairs de préillumination est prouvée par la faible élévation du niveau de fluorescence que l'on observe dans ces conditions [2, 6].

Dans cette hypothèse seuls les  $Z^+$  liés participeraient à la réaction de désactivation; ceci est en accord avec les résultats précédents qui montrent que la vitesse de disparition des  $Z^+$  liés est beaucoup plus rapide que celle des  $Z^+$  non liés. Pour interpréter la désactivation de ces  $Z^+$  non liés, il faut faire appel à un autre mécanisme, par exemple un changement de position de la liaison privilégiée qui se produirait à l'obscurité, avec une probabilité évidemment assez faible. D'après les courbes 2' de la Fig. 5 représentant  $[x_{2(0)} + x_{4(0)}]$  ( $Z^+$  non liés) en fonction du temps, la commutation aurait lieu, à l'obscurité, en moyenne toutes les 20 ou 30 sec.

Le modèle no. 4 permet donc d'interpréter de façon simple les cinétiques de désactivation dont le caractère complexe était souligné dans d'autres travaux [4, 12].

## 6. CALCUL THEORIQUE DES CINETIQUES EN LUMIERE CONTINUE ET COMPARAISON AVEC L'EXPERIENCE

6.1 En premier lieu, nous supposons que la vitesse  $v$  d'émission d'oxygène est proportionnelle à l'intensité lumineuse et à la concentration des centres photochimiques comportant un donneur d'électrons  $Z^+$  lié à l'accepteur d'électrons  $Q$ , soit  $v = ki(x_3 + x_4)$ . Cela implique que la concentration en accepteur d'électrons  $Q$  sous la forme oxydée est constante. Rappelons que dans le cas où cette concentration varie la relation entre la vitesse d'émission d'oxygène et la concentration en centres photochimiques actifs n'est plus linéaire [13].

Le système d'équations auquel satisfont les concentrations  $x_{i(t)}$  s'écrit alors:

$$\frac{dx_1}{dt} = ki[-x_1 + x_3]$$

$$\frac{dx_2}{dt} = ki[px_1 - x_2 + (1 - p)x_4]$$



$$\frac{dx_3}{dt} = ki [(1-p)x_1 - x_3 + px_4]$$

$$\frac{dx_4}{dt} = ki [x_2 - x_4]$$

Compte tenu de la condition  $[x_{1(t)} + x_{2(t)} + x_{3(t)} + x_{4(t)} = 1]$  qui doit être vérifiée quel que soit  $t$ , on en déduit qu'à l'état stationnaire:  $x_{1(t)} = x_{2(t)} = x_{3(t)} = x_{4(t)} = 0,25$ .

La concentration en centres capables de contribuer à l'émission d'oxygène,  $(x_3 + x_4)$  est alors égale à 0,5, c'est-à-dire à la valeur stationnaire obtenue à la fin d'une série d'éclairs.

6.2 Le système d'équations ci-dessus s'écrit vectoriellement:

$$\frac{d\mathbf{X}}{dt} = \mathbf{M} \cdot \mathbf{X}$$

où  $\mathbf{X}$  est le vecteur de composantes  $x_i$  et  $\mathbf{M}$  une matrice  $(4 \times 4)$ . La solution de cette équation est:

$$\mathbf{X}_{(t)} = e^{Mt} \cdot \mathbf{X}_{(0)}$$

Par transformations successives, il est possible de diagonaliser la matrice  $(e^{Mt})$  et d'obtenir les solutions suivantes:

$$x_{1(t)} = 0,25 \{1 + A e^{-2kit} + 2e^{-kit} [B \cos(\alpha kit) - D \sin(\alpha kit)]\}$$

$$x_{2(t)} = 0,25 \{1 - A e^{-2kit} + 2e^{-kit} [C \cos(\alpha kit) + E \sin(\alpha kit)]\}$$

$$x_{3(t)} = 0,25 \{1 - A e^{-2kit} - 2e^{-kit} [C \cos(\alpha kit) + E \sin(\alpha kit)]\}$$

$$x_{4(t)} = 0,25 \{1 + A e^{-2kit} - 2e^{-kit} [B \cos(\alpha kit) - D \sin(\alpha kit)]\}$$

dont on déduit:  $v_{(t)} = \frac{ki}{2} \{1 - e^{-kit} [F \cos(\alpha kit) + G \sin(\alpha kit)]\}$

où  $A, B, C, D, E, F, G$ , sont des combinaisons des concentrations initiales  $x_{i(0)}$ :

$$A = [x_{1(0)} + x_{4(0)}] - [x_{2(0)} + x_{3(0)}], B = [x_{1(0)} - x_{4(0)}], C = [x_{2(0)} - x_{3(0)}]$$

$$D = C/\alpha, E = \alpha B, F = (B + C), G = (E - D) = (\alpha B - C/\alpha)$$

La forme des courbes dépend de  $p$  par l'intermédiaire du paramètre  $\alpha = \sqrt{(2p-1)}$ .

L'influence de  $p$  apparaît sur les courbes 1 de la Fig. 9. Ces courbes représentent  $v_{(kit)}$  dans le cas des conditions initiales suivantes:  $x_{1(0)} = 1, x_{2(0)} = x_{3(0)} = x_{4(0)} = 0$  et pour différentes valeurs de  $p$  comprises entre 0,5 et 0,95. Lorsque  $p$  est supérieur à 0,8, on observe un point d'inflexion caractéristique des courbes obtenues expérimentalement après une assez longue période d'obscurité.

Les cinétiques  $v_{(kit)}$  ont également été calculées pour des conditions initiales correspondant à une préillumination par un ou deux éclairs (courbes 2 et 3 de la Fig. 9). Ces courbes font apparaître tous les phénomènes caractéristiques observés expérimentalement: après un éclair, une activation rapide suivie d'une légère stimulation; après deux éclairs, une décroissance de la vitesse dont la constante de temps est proche de celle de l'activation.

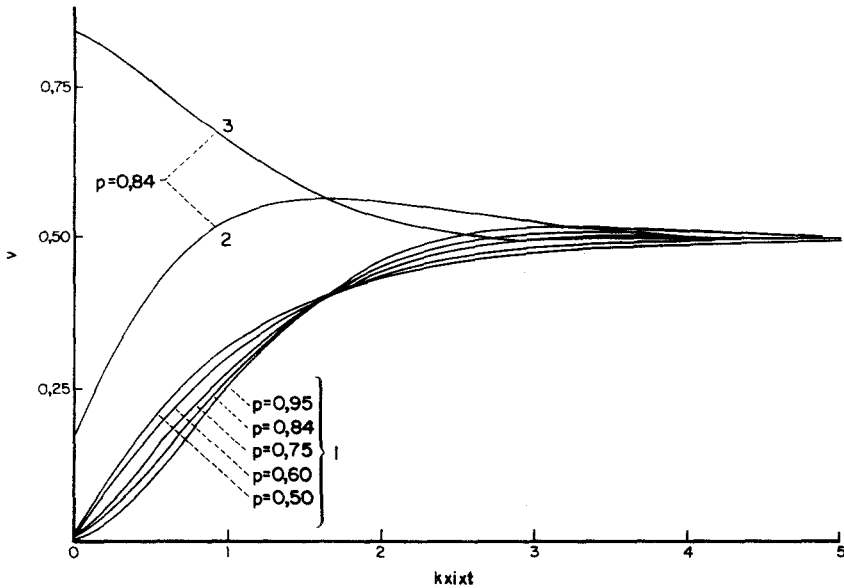


Fig. 9. Valeurs théoriques de la vitesse d'émission d'oxygène  $v_{(kit)}$  dans le cas d'une illumination continue. Ces valeurs sont calculées à l'aide des équations dérivées du modèle no. 4 pour différentes valeurs de  $p$  et pour les conditions initiales suivantes: Courbes 1:  $x_{1(0)} = 1, x_{2(0)} = x_{3(0)} = x_{4(0)} = 0$ ; Courbes 2: ( $p = 0,84$ ):  $x_{1(0)} = 0, x_{2(0)} = 0,84, x_{3(0)} = 0,16, x_{4(0)} = 0$  (cet état serait obtenu sous l'effet d'un éclair saturant intervenant après une longue période d'obscurité); Courbes 3: ( $p = 0,84$ ):  $x_{1(0)} = 0,16, x_{2(0)} = 0, x_{3(0)} = 0, x_{4(0)} = 0,84$  (cet état serait obtenu sous l'effet de deux éclairs saturants intervenant après une longue période d'obscurité).

Une comparaison quantitative entre les cinétiques théoriques et expérimentales a été effectuée sur les courbes des Fig. 6(a) et 6(b) en utilisant la valeur de  $p$  déterminée précédemment ( $p = 0,84$ ). Les courbes expérimentales ayant été obtenues avec le même lot de Chlorelles et pour la même intensité lumineuse, les six courbes théoriques ont été calculées en utilisant une seule valeur de  $ki$  déterminée empiriquement en ajustant les courbes théoriques aux courbes expérimentales. Les conditions initiales correspondant à chacune des courbes théoriques ont été calculées à l'aide des termes  $y_1$  et  $y_2$  de chacune des deux séries d'éclairs obtenues dans les mêmes conditions expérimentales que les courbes 1 et 4.

Pour les conditions initiales correspondant à 70 sec d'obscurité (courbes 1, 2 et 3), on a  $y_1 = 0$  d'où  $[x_{3(0)} + x_{4(0)}] = 0$  et le système d'équations déjà étudié (Paragraphe 5.2) est alors soluble.

Dans le cas des conditions initiales correspondant à 20 sec d'obscurité (courbes 4,5 et 6)  $y_1$  est très faible (0,03) et pour simplifier, nous avons posé  $x_{4(0)} = 0$  (d'où  $x_{3(0)} = 0,03$ ).

Ceci permet de définir les concentrations initiales  $x_{i(0)}$  correspondant aux courbes 1' et 4'; les concentrations initiales correspondant d'une part aux courbes 2' et 3', d'autre part aux courbes 5' et 6', ont été déduites respectivement des concentrations initiales obtenues pour les courbes 1' et 4' en appliquant les relations de récurrence qui décrivent l'effet d'un éclair saturant (Paragraphe 4.5). Ces différentes valeurs de  $x_{i(0)}$  sont portées dans le tableau suivant.

Tableau 2

Conditions initiales $x_{i(0)}$	courbe 1'	courbe 2'	courbe 3'	courbe 4'	courbe 5'	courbe 6'
$x_1$	0,93	0,00	0,15	0,55	0,03	0,09
$x_2$	0,07	0,78	0,01	0,42	0,46	0,09
$x_3$	0,00	0,15	0,06	0,03	0,09	0,36
$x_4$	0,00	0,07	0,78	0,00	0,42	0,46

De plus, on peut observer en portant les termes  $y_1, y_2, y_3$  du tableau 1 sur les Figs. 6(a) et 6(b), que les valeurs expérimentales de la vitesse d'émission d'oxygène et de la quantité d'oxygène émise par un éclair saturant intervenant dans les mêmes conditions initiales sont proportionnelles. Ce résultat confirme la validité de l'hypothèse que nous avons faite en supposant  $v = ki(x_3 + x_4)$ .

En conclusion, l'ensemble des courbes expérimentales des Figs. 6(a) et 6(b) peut être décrit à partir d'équations ne faisant intervenir que les deux seuls paramètres  $p$  et  $ki$ . L'accord obtenu est d'autant plus satisfaisant que l'effet des phénomènes d'induction et des réactions de désactivation a été complètement négligé.

#### 7. REPRESENTATION MOLECULAIRE DU MODELE No. 4

Le modèle no. 4 a été élaboré à partir d'informations de caractère exclusivement cinétique et il est rare que de telles informations conduisent à un seul type de représentation moléculaire. Nous donnerons deux exemples de représentations possibles.

##### 7.1 Mécanisme impliquant un changement de conformation d'une ou plusieurs molécules

On peut imaginer que la chlorophylle, l'accepteur  $Q$  et les deux donneurs d'électrons  $Z$  sont fixés à un enzyme photochimique. Cette protéine comporte deux sites permettant la fixation des deux  $Z$  et elle possède deux conformations stables: dans chacune des deux conformations, l'un des sites est bloqué, l'autre est actif.

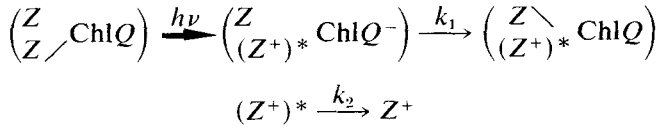
Pour passer d'une conformation à l'autre, il faut franchir une barrière d'énergie. L'énergie nécessaire est prélevée au niveau de l'étape photochimique. La signification du paramètre  $p$  est alors extrêmement simple:  $p$  représente la probabilité du changement de conformation,  $(1 - p)$  étant la probabilité pour que le système retombe dans l'état initial.

##### 7.2 Mécanisme de type cinétique

Un changement de conformation n'est pas indispensable pour représenter le mécanisme de commutation.

Nous pouvons supposer que l'enzyme photochimique (qui comporte la chlorophylle et l'accepteur d'électrons) et les deux donneurs d'électrons  $Z$  sont inclus dans un certain volume: les deux donneurs sont confinés au strict voisinage d'un seul enzyme et rigoureusement isolés des autres couples de donneurs. L'enzyme photochimique ne possède qu'un seul site pour le donneur d'électrons  $Z$ . Le transfert d'un électron de  $Z$  vers l'accepteur  $Q$  a pour effet de placer ce donneur dans un état où il est inapte à former une liaison avec l'enzyme. Soit  $(Z^+)^*$ , ou  $(Z^{2+})^*$ , cet état. Un acte photo-

chimique donne lieu à une séquence de réactions qui s'écrit, par exemple dans le cas où un photon est absorbé par un centre (ZZ):

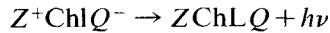


On peut écrire des séquences analogues pour les autres formes ( $\dot{Z}Z^+$ ), ( $Z\dot{Z}^+$ ) et ( $Z^+Z^+$ ).

$k_1$  représente la constante de vitesse de formation d'une liaison entre un donneur et l'enzyme photochimique, et  $1/k_2$ , la durée de vie de l'état  $(Z^+)^*$ . Si  $k_1$  est beaucoup plus grand que  $k_2$ , le système fonctionnera comme un inverseur connectant successivement chacun des deux Z. Quant au paramètre  $p$ , il est fonction du rapport  $k_1/k_2$ : en effet, si la durée de vie de l'état  $(Z^+)^*$  est du même ordre de grandeur que le temps de formation d'une liaison, celle-ci a une probabilité non nulle de se former de nouveau avec le donneur qui vient de réagir.

#### 8. DESACTIVATION ET LUMINESCENCE

Différents auteurs [14, 15] ont supposé que l'émission de luminescence qui s'observe chez tous les végétaux chlorophylliens était liée à la recombinaison des produits photochimiques primaires de la réaction photochimique II. Selon Lavorel cette réaction s'écrit:



Cette réaction est identique à celle que nous avons introduit pour interpréter la désactivation des donneurs  $Z^+$ . La vitesse de cette réaction doit être proportionnelle à la concentration des donneurs  $Z^+$  'liés' et à la concentration de la forme réduite de l'accepteur Q.

Dans l'hypothèse où les donneurs  $Z^+$  produits au niveau des différents centres photochimiques peuvent diffuser dans le système et coopérer pour la formation d'oxygène (hypothèse à 1 quantum), la durée de vie des états  $Z^+$  doit être extrêmement courte. Cette durée de vie ne peut être supérieure à la milliseconde, demi-temps de la réaction limitante de formation d'oxygène [8]. Au contraire, une hypothèse à deux quanta (cas du modèle no. 4) implique une grande stabilité des états  $Z^+$ , ce qui rend compte de la valeur élevée des durées de vie de luminescence observées expérimentalement.

Les expériences de Jones apportent un nouvel argument démontrant que l'émission de luminescence est fonction de la concentration des donneurs  $Z^+$  sous la forme 'liée'. Cet auteur a montré que, après une longue période d'obscurité, l'émission de luminescence n'apparaît qu'après l'absorption successive de deux quanta par un même centre photochimique. Ce résultat est cohérent avec l'ensemble des hypothèses formulées précédemment. D'une part, nous avons admis que seuls les donneurs  $Z^+$  liés étaient susceptibles de participer à la réaction de désactivation. D'autre part, dans le cas d'algues maintenues à l'obscurité, l'espèce  $Z^+$  'liée' n'apparaît en concentration appréciable qu'après l'absorption de deux quanta par un même centre photo-

chimique. On peut donc prévoir que l'émission de luminescence qui est liée à la vitesse de la réaction de désactivation n'apparaît également qu'après deux étapes photochimiques.

## 9. CONCLUSION

Le modèle formel que nous avons proposé rend compte avec une bonne approximation de l'ensemble des expériences décrites dans cet article et ceci, à partir d'équations théoriques ne faisant intervenir que deux paramètres, la constante de vitesse  $k_i$  et la probabilité de commutation  $p$ . Cependant, certaines divergences se manifestent d'une manière reproductible entre le calcul théorique et les résultats expérimentaux. Le modèle pourrait probablement être amélioré par l'introduction d'hypothèses supplémentaires. Ainsi, des calculs préliminaires montrent que la dispersion des points expérimentaux portés sur la Fig. 4 peut être interprétée en partie en supposant que la probabilité de commutation est fonction de l'état des centres. Cette hypothèse introduit une correction du second ordre dont il n'a pas été tenu compte dans cet article.

L'impossibilité de faire un choix parmi les nombreux mécanismes moléculaires qui peuvent être envisagés reste cependant la limite essentielle du modèle que nous proposons. Il ne semble pas que des résultats de type exclusivement cinétique puissent apporter une solution à ce problème et il sera nécessaire d'obtenir des informations plus directes sur l'état et sur la structure du complexe photochimique.

*Remerciements*—Ce travail a été réalisé grâce aux subventions accordées par le Centre National de la Recherche Scientifique, la Delegation Générale à la Recherche Scientifique et Technique, et par le Commissariat à l'Energie Atomique.

## REFERENCES

1. L. N. M. Duysens et J. Amesz, *Biochim. et Biophys. Acta* **64**, 243 (1962).
2. P. Joliot, *J. Chim. Phys.* (1961).
3. P. Joliot, *Biochim. et Biophys. Acta* **102**, 116 (1965).
4. Y. de Kouchkovsky et P. Joliot, *Photochem. Photobiol.* **6**, 567 (1967).
5. P. Joliot, *Photochem. Photobiol.* **8**, 451 (1968).
6. B. Forbush et B. Kok, *Biochim. et Biophys. Acta* **162**, 243 (1968).
7. T. Yamashita et W. L. Butler, In *Comparative Biochemistry and Biophysics of Photosynthesis* (Edité par K. Shibata, A. Takamiya, A. T. Jagendorf et R. C. Fuller), p. 179. University of Tokyo Press, Tokyo (1968).
8. P. Joliot, M. Hofnung et R. Chabaud, *J. Chim. Phys.* **10**, 1423 (1966).
9. P. Joliot et A. Joliot, *Biochim. et Biophys. Acta* **153**, 625 (1968).
10. F. L. Allen et J. Franck, *Arch. Biochim. Biophys.* **58**, 124 (1955).
11. C. P. Wittingham et A. H. Brown, *J. Exptl. Botany* **9**, 311 (1958).
12. C. Lemasson, Communication personnelle.
13. P. Joliot et A. Joliot, *Compt. Rend.* **258**, 4622 (1964).
14. W. E. Arthur and B. L. Strehler, *Arch. Biochim. Biophys.* **70**, 507 (1957).
15. J. Lavorel, Communication au 3<sup>ème</sup> Congrès International de Photosynthèse. Freudenstadt, Germany (1968).
16. L. W. Jones, *Proc. Natl Acad. Sci., U.S.* **58**, 75 (1967).