

# 小麦黄化幼苗转绿过程中类囊体片层结构 及其光合特性的变化<sup>•</sup>

姜秀勇<sup>1</sup> 高煜珠<sup>2</sup> 王忠<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>福建省农科院土肥所,福州 350013; <sup>2</sup>江苏省农学院农学系)

**摘要:** 小麦黄化幼苗经连续照光后逐渐转绿。随照光时间的增加表现光合活性增强, Rubis CO (1,5-二磷酸核酮糖羧化加氧酶)活性在照光初期下降, 12 h 后逐渐回升。研究连续照光 24 h 和 48 h 后, 叶片顶部和基部类囊体片层结构及其光化学活性的变化表明: 伴随着类囊体片层数目的增加 PS I 活性下降, PS II 活性增强。小麦黄化幼苗转绿过程中, 叶绿体通过自身的发育, 结构和功能的进一步完善使得光能在两个光系统间得到均衡地分配, 提高了叶绿体对光能的利用率。

**关键词:** 小麦; 黄化幼苗; 类囊体片层; 光系统 I; 光系统 II

## The Changes of Lamella Structure and photosynthetic Properties on Etiolated Wheat Seedlings during Greening Stages

Jiang Xiuyoung<sup>1</sup>, Gao Yuzhu<sup>2</sup> and Wang Zhong<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Soil and Fertilizer Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013;

<sup>2</sup>Agronomy Department, Jiangsu Agricultural College, Yangzhou, 225001)

**Abstract:** When etiolated seedlings of wheat were exposed to light, their leaves would be greening and apparent photosynthesis increased; the activity of Rubis CO(Ribulose-1,5-Biphosphate Carboxylase-Oxygenase)decreased at first and increased after continuous illumination for 12 h. We had also studied the structure changes of lamella in the top and base leaves which received a continuous illumination for 24 h and 48 h and measured their photochemical activities at the same time. The results showed, at the begining, PSI activity was very high, as the lamella got a raise in number, PSI activity decreased while PSII increased. It suggested that the chloroplasts were developed and improved in their structure and function during the process of greening of etiolated wheat seedlings, thus the two photosynthetic systems were equivalently distributed, the utilizing efficiency of light energy by chloroplasts was increased.

**Key Words:** Wheat; Etiolated seedling; Lamella in grana; PS I; PSII

研究叶绿体的发育是探讨光合作用机理的一个重要内容。人们可以在自然条件下从叶的发生、伸长和衰亡过程中研究叶绿体结构和功能的变化规律<sup>[10,11,12]</sup>, 也可以从黄化幼苗经照光转绿过程中研究它们的变化<sup>[1,2,13]</sup>。在发生学上正常生长的小麦叶片各组织是自顶部向基部依次成熟的<sup>[11]</sup>, 暗处理的小麦黄化幼苗, 照光后, 据我们观察则有所不同, 基部转绿较顶部快。

• 收稿日期: 1993-08-20

因此,研究黄化幼苗转绿过程中光合作用和光、暗反应的关系;比较其叶片顶部和基部叶绿体发育状况和 PS I 、PS II 活性的差异,对于进一步阐明叶绿体发育过程中叶绿体结构和功能的变化具有重要意义。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与培养:**材料为扬麦 5 号 [Triticum, aestivum. L.]。种子用 2%漂白粉浸泡消毒,暗培养 7 d, 此时子叶叶长可达 10 cm 左右, 以  $4 \times 10^4$  lx 光强连续照光不同时间, 以获得黄化程度不同的幼苗。取完整叶片测定表观光合活性。其它生理指标测定取样时, 将上述叶片分顶(T)、中(M)和基部(B)三部分, 中部用作可溶性蛋白质, 叶绿素含量和 Rubis CO 活性的测定, 顶部和基部用作光化学活性测定并分别在它们略为中央的位点取材用于电镜观察。

### 1.2 测定方法

**1.2.1 叶绿体制备**按王国强法<sup>[3]</sup>。光化学活性用极谱氧电极, 测定光强 10<sup>5</sup> lx。测定基本介质为 TMK (Tricine 50 mmol/L, pH7.8; MgCl<sub>2</sub> 5 mmol/L; KCl 20 mmol/L) 各反应介质为: (1)PS I 活性: NH<sub>4</sub>Cl 5 mmol/L; M · V 50 μmol/L; Vit · C 2 mmol/L; DCIP 5 mmol/L; DCMU 50 μmol/L; (2)PS II 活性: NH<sub>4</sub>Cl 5 mmol/L; FeCy 4 mmol/L; PD 1 mmol/L。活性单位用 μmol O<sub>2</sub>/(mgchl · h) 表示。

**1.2.2 表观光合速率**用手提式 LI-6200 红外仪, 测定参照王忠、高煜珠法<sup>[4]</sup>。

**1.2.3 叶绿素含量测定**用 Arnon 法<sup>[9]</sup>。

**1.2.4 可溶性蛋白质含量测定**采用 Lowry 法<sup>[14]</sup>。

**1.2.5 Rubis CO 提取和活性测定**取叶片 1 g 加 5 ml 预冷的提取介质 (Tris-HCl 50 mmol/L pH7.8; MgCl<sub>2</sub> 10 mmol/L; EDTANa<sub>2</sub>; 1 mmol/L; DTT 2 mmol/L), 冰浴研磨, 匀浆经尼纱布过滤, 滤液 20000 g 冰冻离心 20 min, 上清液即为酶粗提液。Rubis CO 活性测定用“碳同位素法”<sup>[5]</sup>。酶活性单位用 μmol CO<sub>2</sub>/(mg. pro. min) 表示。

**1.2.6 电子显微镜样品制备:**材料用 4% 戊二醛前固定, 清洗后用 DSO<sub>4</sub> 后固定, 系列脱水, 渗透, 包埋, 超薄切片用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 透射电镜观察不同转绿时期叶片类囊体片层发育的状况。

## 2 结 果

**2.1 表观光合速率的变化:**植物的表观光合速率是由光合速率减去呼吸速率。从图 1 看出:未经照光的黄化幼苗不显示表观光合作用,当照光 6 h 后其表观光合速率可达 10 μmol CO<sub>2</sub>/(kgFW · S), 说明这时的叶片已经具有光合作用的功能。随着光照时间的延长它们的表观光合作用也增强, 经过连续的 48 h 照光其表观光合速率可达 45 μmolCO<sub>2</sub>/(kgFW · S)左右。

**2.2 1,5-二磷酸核酮糖羧化加氯酶活性的变化:**从图 1 可以看出:照光前的黄化幼苗 Rubis CO 活性为  $1.67 \times 10^{-2}$  μmol CO<sub>2</sub>/(mgpro · min), 照光 12 h 其活性降至  $0.83 \times 10^{-2}$  μmol CO<sub>2</sub>/(mgpro · min), 12 h 后才有所回升, 照光 36 h 后其活性可达  $1.49 \times 10^{-2}$  μmol CO<sub>2</sub>/(mgpro · min) 左右。

**2.3 叶绿素和可溶性蛋白质含量的变化:**随着照光时间的延长, 黄化幼苗叶片逐渐转绿, 叶片中部的叶绿素含量逐渐增加。由图 2 可见:照光初期叶片叶绿素含量增加速度较慢, 照光 12

h 后有一急速的增加时期，照光 24 h 后叶绿素含量增加速度又趋于缓慢；照光前叶片中可溶性蛋白质含量为 22.2 mg/(g FW)，随照光时间的增加可溶性蛋白质含量也增加，照光 48 h 后增加至 30.3 mg/(g FW)。

**2.4 叶片中不同部位叶绿素含量的变化：**在黄化幼苗转绿过程中我们观察到叶片不同部位转绿速率存在着差异，基部首先转绿，中部次之，顶部最慢。测定黄化幼苗照光 24 h 不同部位叶绿素含量得到相似的结果，表 1 表明：基部叶绿素含量可达 0.42 mg chl/(g FW)，中部为 0.34，顶部最低为 0.28 mg chl/(g FW)。照光 48 h 后顶、中、基部的叶绿素含量也存在类似的变化趋势，但其变化值趋于接近。

#### 2.5 叶片不同部位类囊体片层发育状况的变化

类囊体片层发育状况的电镜观察统计结果表明：黄化幼苗照光 24 h 后叶片顶部基粒以单一片层的类囊体占多数，此时基部已出现了 2~3 个片层垛叠的类囊体；黄化幼苗照光 48 h 后叶片顶部以 3~4 个片层的类囊体居多，基部一般多于 5 个片层，见版图 1。正常叶片叶绿体内基粒片层数一般为 5~20 个，旗叶中垛叠的基粒片层数目最多可以高达 42 个<sup>[7]</sup>。这说明照光 48 h 的黄化幼苗叶绿体还处在发育过程中。

**2.6 叶片不同部位光化学活性的变化：**黄化幼苗经 24 h 到 48 h 照光转绿过程中，叶片顶部叶绿体的 PS II 活性由  $45 \mu\text{mol O}_2/(\text{mg chl} \cdot \text{h})$  上升至 67 增加了 48.9%，PS I 活性由  $1742 \mu\text{mol O}_2/(\text{mg chl} \cdot \text{h})$ ，下降至 1187 降低了 31.9%；叶片基部也得到相似的结果，前者增加了 104.7%，后者下降了 20.5%，见表 2。

### 3 讨 论

**3.1 小麦黄化幼苗转绿过程中表现光合作用与光、暗反应的关系：**Rubis CO 是催化暗反应二氧化碳固定的限速酶。Dickmann, DI. (1971) 认为：以叶片鲜重和叶绿素为单位的 Rubis CO 活性随着叶片的发生和伸长其活

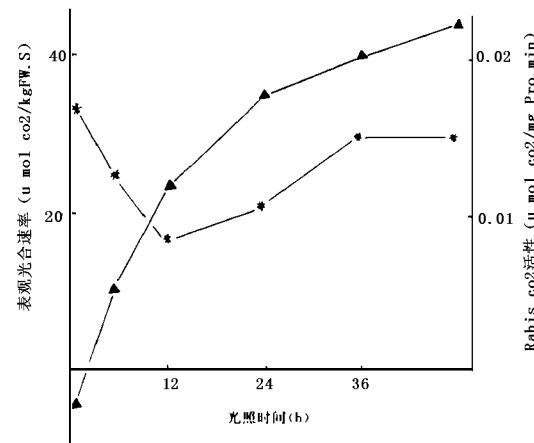


图 1 小麦黄化幼苗转绿过程中表现光合速率和 1, 5 -二磷酸核酮糖羧化加氯酶活性的变化

Fig. 1 The changes of apparent photosynthesis and activity of Rubis CO during the greening stage of etiolated seedlings of wheat

▲—▲ 表观光合速率 \*—\* RubisCO 活性

表 1 叶片中不同部位叶绿素含量的变化

Table 1 The changes of Chlorophylla Content in Different Sections of Leaves

照光时间 (h)	叶绿素含量(mg/g 鲜重)		
	顶部	中部	基部
24	0.28	0.34	0.42
48	0.44	0.46	0.47

表 2 叶片中不同部位光化学活性的变化

Table 2 The Changes of Photochemical Activities in Different Sections of Leaves

部位	照光时间 (h)	PS II	活性 (%)	PS I	活性 (%)	$\mu\text{mol O}_2/(\text{mg chl} \cdot \text{h})$
		PS II	活性 (%)	PS I	活性 (%)	
顶部	24	45	100	1742	100	
	48	67	148.9	1187	68.1	
基部	24	23.4	100	784	100	
	48	47.9	204.7	623	79.5	

性增加。而在我们黄化幼苗转绿过程中以可溶性蛋白质为单位的 Rubis CO 活性则出现“滞后”现象，即未照光的黄化幼苗 Rubis CO 已表现出较高的活性，随照光时间的延继其活性下降，然后才有所回升。高等植物的 Rubis CO 是由大小两种亚基组成，分别由叶绿体和细胞核基因组编码，它需要经过前体的合成、加工、组装等一系列过程才能形成具有催化活性的酶<sup>[6,12]</sup>。照光初期 Rubis CO 活性的下降，也许不是 Rubis CO 酶量的减少，而是组织中可溶性蛋白质含量（包括这段时间内合成的 Rubis CO 酶前体）增加造成的（图 2）。尔后，随着照光时间的延继，合成的酶前体经加工、组装成具有催化活性的酶，从而表现出 Rubis CO 酶活性有所回升的结果。

未照光的黄化幼苗虽不表现表观光合作用，但此时 Rubis CO 活性却较高，随着照光时间的延长，叶片的转绿，表观光合作用才增加，而 Rubis CO 活性却有所不降。比较这两者之间的关系表明，Rubis CO 活性的降低并改变表观光合作用增加的趋势。这一结果说明了在黄化幼苗转绿过程中二氧化碳的暗固定不会成为光合作用的限速反应，而光反应即光合色素的合成，光合单位的建立以光化学活性的增加对光合作用才是至关重要的。

### 3.2 叶绿素含量和基粒片层数目的关系：从我

们的结果来看，黄化幼苗转绿过程中叶片基部的叶绿素含量比顶部高（表 1），基粒片层数目也是基部多于顶部（版图），这一结果与 Anderson(1973)认为叶绿素含量和基粒片层数目成正相关的论点一致。在自然条件下生长的叶片，叶绿素含量与基粒片层数目虽成正相关，但在细胞发生学上却与黄化幼苗的叶片转绿过程存有差异，即叶片顶部的细胞和类囊体先于基部发育成熟，基粒片层数目和叶绿素含量也是顶部高于基部<sup>[11]</sup>。关于产生这一现象的原因还有待进一步研究。

转绿过程中的黄化幼苗叶片基部基粒片层数目比顶部多，而以叶绿素含量为单位的 PS I 和 PS II，活性却下降，后者的结果和 Baker and Leech(1977)以自然条件下生长的玉米叶片为材料所得的结果也相似。然而却和左宝玉和段继川(1978)提出的类囊体片层的垛叠有利于光能的吸收和转化的论点相悖。推测这可能是随着照光时间的延长，在某一发育阶段，叶绿素含量增加，合成光合色素的速率超过其转化为光合单位的速率，结果以叶绿素为单位的 PS I, PS II 活性的下降掩盖了由于垛叠所产生的增益效应所致。如果以质体数目为单位的光化学活性则又表现出上升的趋势<sup>[12]</sup>。

3.3 PS I 和 PS II 发生的意义：在生物进化过程中，从低等的红藻、褐藻到绿藻，其类囊体片层经由单层、复层、三层发展到高等植物紧密垛叠的基粒；从低等的光合细菌只有 PS I 单个光系统发展到高等植物具有 PS I 和 PS II 两个光系统，说明了光合膜的结构和功能经由简单到复杂、低级向高级的系统演化进展。在个体发育过程中，前人也证明了 PS I 颗粒首先整

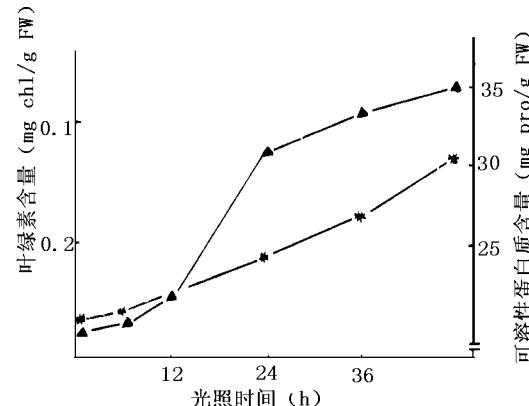


图2 小麦黄化幼苗转绿过程中叶绿素和可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 2 The changes of chlorophyll content and soluble protein during the greening stage of etiolated seedlings of wheat

▲ 叶绿素含量 \* 可溶性蛋白质

合到光合膜上而先于PSⅠ出现<sup>[1]</sup>。由表2可见，照光24 h叶片顶部PSⅠ活性高达1742  $\mu\text{mol O}_2 / (\text{mgchl} \cdot \text{h})$ ，这一结果也肯定了这一论点。然而，相对比较照光24 h和48 h叶片顶部的光化学活性则可发现，经过延续24 h的照光后，PSⅠ活性下降了31.9%，与此同时PSⅡ活性却增加了48.9%；叶片基部的光化学活性也具有相似的趋势。

Myer(1963)认为：叶绿体截获的光能首先供给PSⅠ利用，过多的能量通过光能溢满(spill-over)可被PSⅡ再利用。随着叶绿的发育，PSⅠ首先出现并表现出较高的光化学活性，而后PSⅡ颗粒的形成，PSⅡ活性的增加，PSⅠ活性下降。由原来是主要是PSⅠ通过循环式光合磷酸化发展到PSⅠ和PSⅡ两个光系统，循环式和非循环式两种光合磷酸化形式互相协调地进行。高等植物在其发育过程中，通过自身的结构完善和功能转换作用，使光能在两个光系统间得到较均衡地分配，从而大大提高了光合器官对光能的利用率。

**本文所用缩写：**M：V<sub>1</sub>；甲基紫精；PD：对苯二胺；Vit. C：抗坏血酸钠；NaN<sub>3</sub>：叠氮化钠；DCIP：二氯酚靛酚；FeCyt：铁氰化钾；DXMU：3-(3,4'-基团)-1,1'-甲脲

### 参考文献

- [1] 陈家庚, 1962. I. 小麦壮苗与黄弱苗叶片细胞的比较观察. 植物学报, 10(4): 492~498
- [2] 任廷云等, 1979. 叶绿体的结构与功能. I. 叶绿体膜的结构、组成与光系统Ⅰ功能的关系. 植物生理学报, 5(2): 99~106
- [3] 王国强等, 1983. 增加膜及调节膜对光化学活性的效应. 植物生理学报, 9(2): 165~174
- [4] 陈忠等, 1991. 小麦光合强度的日变化及其产生的原因. 江苏农学院学报, 12(3): 17~23
- [5] 李立人, 1986. 肾糖-3-磷酸核酮糖羧化酶体内活化作用的调节. 植物生理学报, 12(1): 33~39
- [6] 李立人, 李粹芳, 1991. 各种因子对固定化烟草核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶解离作用的影响. 植物生理学报, 17(1): 1~7
- [7] 左宝玉、段续川, 1978. 冬小麦不同层次叶片中叶绿体超微结构及其功能的研究. 植物学报, 20(3): 223~228
- [8] Anderson JM et al. 1973. Composition of the photosystems and chloroplast structure in extrem shade plants. Biochim. Biophys. Acta, 325: 573~585
- [9] Arnon DI. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Plant physiol., 24(1): 1~15
- [10] Choudhury NK & Biswal UC. 1979. Changes in the content of chlorophyll, protein and nucleic acids and in the efficiency of photoelectron transport of chloroplasts during growth of maize seedlings. Plant science letters, 16: 95~99
- [11] Baker NR & Leech RM. 1977. Development of Photosystem I and photosystem II activities in leaves of light grown maize. plant physiol., 60: 640~644
- [12] Diekmann DI. 1971. Chlorophyll, ribulose 1,5-diphosphate carboxylase, and Hill reaction activity in developing leaves of *Populus deltoides*. Plant physiol., 48: 143~145
- [13] Krol M et al. 1987. Chloroplast biogenesis at cold hardening temperatures: developments of photosystem I and photosystem II activities in relation to pigment accumulation. Photosynthesis research, 14: 97~112
- [14] Lowry OH et al. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265~275
- [15] Myer J & Graham JR. 1963. Enhancement in *Chorella*. Plant Physiol., 38: 105~116