小麦返白系白期叶片翻译和转录活性研究*

郭蔼光 冯献忠 赵丽莉 汪沛洪

(西北农业大学基础科学系, 陕西杨陵 712100)

摘要 小麦返白系在返白期间, 叶片可溶性蛋白含量降低, 降低幅度与叶绿素含量呈负相关。半展叶的翻译和转录活性大于卷叶, 并且与叶绿素含量呈正相关。

关键词 小麦返白系, 蛋白质, 翻译, 转录, 叶绿体发育

中图分类号 S512.101

小麦返白系是矮变1号小麦的自然突变株。在冬前其长相和亲本无差别, 春天小麦返青时, 自心叶开始白化, 后又复绿, 前后历时约40 d。对其基本遗传特性、色素代谢、叶绿体超微结构和生理生化性质等的研究表明: 返白属细胞质遗传; 白化是因叶绿素合成受阻^[1]; 返白受低温诱导^[2]; 白化过程中叶绿体片层消失, 复绿时片层恢复^[3]; 白化叶中色素蛋白消失, 复绿时又出现。但关于色素蛋白消失及重新出现的原因及其与叶绿体超微结构变化的关系尚不清楚。为此, 本文对返白阶段叶片翻译和转录活性进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料

小麦(*Triticum aestivum* L.) 返白系及其原始亲本矮变1号(对照)于10月初播于试验小区, 翌年2月初, 待有返白表现时进行点漆标记。自有返白特征起, 每隔7 d 追踪采集心叶长为2 cm 的标记植株的倒二叶基部约3 cm 的切段, 测定叶绿素含量; 采集全白、微复绿、复绿的卷叶、半展叶和全展叶基部切段, 分别测定蛋白质 RNA 合成速率、RNA 含量和叶绿素含量。

1.2 测定项目及方法

叶绿素含量按文献[4]方法测定; 叶片可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝比色法测定^[5]; 翻译和转录活性按文献[6]方法测定。标记氨基酸为¹⁴C-Ala, 标记活度为 7.4×10^5 Bq/mL; 标记核苷为³HU, 标记活度为 4.44×10^6 Bq/mL。

2 结果与分析

2.1 叶片叶绿素和可溶性蛋白含量及翻译活性

由图1可见, 在返白期(从2月初返白系心叶开始出现白化特征起), 随叶片白化, 可溶性蛋白含量降低, 复绿过程升高。值得注意的是, 复绿叶片可溶性蛋白含量高于对照, 这与返白系在复绿时出现的“补偿生长”^[7]一致。

返白期出现的白叶、微复绿叶、复绿叶均称为“返白叶”。由附表可见, 各测定叶片发育中(卷叶→半展→全展)叶绿素含量逐渐增高, 其中微复绿叶和复绿叶提高十分显著。

收稿日期: 1995-07-27

* 国家自然科学基金资助项目。

附表 叶片蛋白质合成速率和叶绿素含量的关系

白化程度	叶绿素含量 (mg/g FW)			蛋白质合成速率 ($\mu\text{c/g FW} \cdot \text{h}$)			$\Delta\text{PS}/\Delta\text{Chl}$		
	卷叶	半展叶	展叶	卷叶	半展叶	展叶	卷叶	半展叶	展叶
白 叶	0.0097	0.0120	0.0604	2.5	5.0	3.0			
微复绿	0.0600	0.0800	0.4310	4.6	16.5	8.5	41.75	169.12	14.84
复 绿	0.1550	0.9940	1.4600	7.7	21.2	9.5	32.63	5.14	0.97
对 照	0.3330	2.3910	2.5510	3.7	23.4	13.9	-22.47	1.58	4.03

注： ΔPS ：蛋白质合成速率变化； ΔChl ：叶绿素含量变化； $\Delta\text{PS}/\Delta\text{Chl} = (\text{PS}_2 - \text{PS}_1) / (\text{Chl}_2 - \text{Chl}_1)$ 。

叶片蛋白质合成速率(翻译活性),在半展期最大,这与叶片的迅速生长有关。返白叶蛋白质合成速率与叶绿素含量呈正相关,一般低于对照,但在全卷的复绿叶中又高于对照,微复绿叶为对照的124%,复绿叶为对照的2倍。从全白至微复绿,叶绿素含量增加引起的蛋白质合成速率变化最大,特别是在半展叶中。这与复绿引起的叶绿体发育恢复、类囊体片层形成在半展叶中最为活跃相一致。

2.2 叶片 RNA 含量和转录活性变化

返白期叶片 RNA 含量及其合成速率(转录活性,图2)与叶片发育阶段相关。幼叶的 RNA 含量和合成速率均低于半展叶。在发育阶段不同的叶片中 RNA 含量和转录活性与叶绿素含量呈正相关:全白叶 RNA 含量和转录活性均低。随白化叶复绿, RNA 含量和转录活性明显升高。转录活性的增长幅度与翻译活性变化相类似。

图1 返白期叶片可溶性蛋白和叶绿素含量

1. 返白系叶绿素含量; 2. 矮变1号叶绿素含量;
3. 返白系可溶性蛋白含量; 4. 矮变1号可溶性蛋白含量

图2 返白期叶片 RNA 含量及其合成速率

A. RNA 含量; B. RNA 合成速率; 1. 白叶; 2. 微复绿叶; 3. 复绿叶; 4. 对照叶

3 讨 论

返白系在返白过程中,蛋白质含量和翻译活性均降低,复绿过程中又升高。两种变化都与叶绿素含量呈正相关。在叶绿体中,构成类囊体片层的色素脱辅基蛋白一旦合成,即与叶绿素等色素结合形成色素蛋白复合物,再组装到膜层系统中成为稳定态蛋白,从而促进了膜的发育^[8]。叶片中包括 Rubisco 大亚基及许多色素蛋白在内的叶绿体蛋白的合成,大多是在类囊体上,由与膜结合的多聚核糖体进行^[9]。白化叶中叶绿素含量低,叶绿体膜层系统少,必然影响蛋白质合成。Rubisco 占叶片可溶性蛋白的 1/2,构成层膜系统的色素蛋白在绿叶中也占很大比例,他们的合成可反映叶片翻译水平,本研究中白叶蛋白合成速率大大低于绿叶也证明了这一点。

返白系在返白过程中叶绿素合成受阻,必然影响色素蛋白组装,而使其处于脱辅基状态,因此极易被水解^[10]。白叶中蛋白酶活性升高说明脱辅基蛋白的不稳定。由此可见,白叶中色素蛋白消失及蛋白质含量降低是合成速率降低和水解速率增强两方面作用的结果。且这两方面均是由于叶绿素合成受阻所致。白化叶在复绿过程中随色素蛋白出现和叶绿体片层结构恢复,蛋白酶活性降低、翻译活性升高、蛋白质含量增加,进一步说明叶绿素含量通过影响叶绿体结构影响翻译活性和蛋白质水平。

在活跃生长的叶片中, RNA 水平取决于转录活性和 RNA 相对稳定性,后者又与翻译活性有关。白叶转录活性低,随叶片复绿转录活性升高(图 2)。这与黄化苗光诱导转绿过程中的情况相似。Klein 和 Mullet 曾报道^[11],因缺光失绿的植物叶绿体发育和质体转录活性同时受到抑制。而菠菜黄化苗在光诱导转绿后,随叶绿体发育转录活性大大提高。返白系在白化和复绿中也有上述变化,进一步说明 CtDNA 转录活性与叶绿体发育状态有关。叶绿体发育影响转录活性的原因是转录活性受 CtDNA 形态影响。CtDNA 通常是与质体外套膜的内膜结合或以聚集体形式与类囊体膜结合而处于一种高转录活性状态^[9]。返白系在复绿过程中,层膜系统形成,促进了叶绿体发育,使 CtDNA 处于高转录活性状态。很多研究表明,处于翻译状态的 mRNA 和核糖体是稳定的^[9]。白化叶复绿过程中结合于膜的核糖体数量大大增加^[3],说明叶绿体片层的形成促进了 RNA 的稳定,这是本研究中复绿叶 RNA 含量上升和翻译活性增强的又一原因。

卷叶 RNA 含量和转录活性均低于半展叶(图 2),这可能与转录模板拷贝数低有关。叶绿体 CtDNA 为多倍体,在叶绿体发育过程中拷贝数逐渐增加。前人研究表明,从前质体到叶绿体转变过程中 CtDNA 数提高了 7.5 倍^[9]。卷叶正处于质体发育中,因受模板限制转录活性较低。复绿中的返白卷叶转录活性显著升高,仅微复绿叶就高出白叶 3 倍之多,说明叶绿素含量极显著影响转录活性,但其 RNA 含量仅略高于白叶,说明复绿卷叶叶绿体结构尚不完善。因此叶绿素含量是否也影响 CtDNA 复制,值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 苏小静,汪沛洪. 小麦返白系返白机理研究 I. 返白阶段叶绿素代谢变化研究. 西北农业大学学报, 1990, 18(3): 80~84
- 2 郭嵩光,王振镛,汪沛洪等. 小麦返白系白化特征及其与环境因素的关系. 西北植物学报, 1991(5): 122~126

- 3 苏小静,汪沛洪.小麦返白系返白机理研究 I.返白阶段叶绿体超微结构观察.西北农业大学学报,1990,18(2):73~76
- 4 Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physic*,1949,24:1~5
- 5 汪沛洪主编.基础生物化学实验指导.西安:陕西科学技术出版社,1986:66~68
- 6 张 慧,冯献忠,郭嵩光.小麦叶片内蛋白质和核酸的标记方法.植物生理通讯,1993(4):287~289
- 7 王永吉,苏小静,汪沛洪.小麦返白系返白后期某些生理变化.植物生理学报,1994,20(1):39~45
- 8 Sutton A, Sieburth L E, Bennett J. Light-dependent accumulation and localization of photosystem I. protein in maize. *Eur J Biochem*,1987,164:571~575
- 9 John E M. Chloroplast development and gene expression. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol*,1988,39:475~502
- 10 Petra G, Michael W. Synthesis and degradation of thylakoid polypeptides. In: George A, Horst (eds). Regulation of chloroplast differentiation. New York: Alan R Liss Inc, 1986, 187~191
- 11 Klein R, Mullet J. Control of gene expression during higher plant chloroplast biogenesis. *J Biol Chem*,1987,262:4341~4344

Studies on the Activity of Translation and Transcription in the Leaves of Wheat Albescence Line

Guo Aiguang Feng Xianzhong Zhao Lili Wang Peihong

(Department of Basic Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The content of soluble protein in albescence leaves decreased when the albescence line of wheat turned albescence. Its decreasing range showed a negative correlation with the content of chlorophyll. The activity of translation and transcription in half-extended leaves was higher than that in rolled leaves, having a positive correlation with the content of chlorophyll.

Key words albescence line of wheat, protein, translation, transcription, development of chloroplast