

小麦突变体返白系返白机理的研究¹⁾

I 返白阶段叶绿体超微结构观察

苏小静²⁾ 汪沛洪

(植物生化研究室)

摘要 在返白系小麦叶色由绿变白的过程中, 叶绿体结构发生退化。返白初期, 出现大量的嗜银小滴, 基粒排列混乱, 垛叠层数异常增多或减少, 并且发现类囊体有肿大量的嗜银现象, 粒消失。返白中期, 叶绿体中呈现空化现象, 内部结构逐渐解体。到叶片继而, 基全白时期, 整个叶绿体变为低电子密度的囊泡状结构。在叶片由白复绿的过程中, 叶绿体的这些变化又可逆转, 内部结构又重现, 基粒迅速形成, 排列也较规则, 整个叶绿体结构很快恢复正常。在整个返白阶段中, 叶细胞中的其它内部结构如中央大液泡等也发生了一定的变化。

关键词 叶绿体, 突变型, 超微结构, 小麦

小麦返白系是从小麦矮变1号中发现的一个自然变异株。这个特异材料在每年春季发生阶段性返白, 之后又能复绿。这种白化现象, 历时约一个月。

返白系是一种较为特殊的色素突变体。它的叶色变化是可逆的, 且在一定的生育期和特定的环境条件下才发生。经李丕皋等研究认为这种阶段性返白特性是受细胞质基因控制的^[1]。在此之前, 国内外报道的色素突变体种类很多, 但象这样具有阶段变化特性的材料却极少。在大麦和矮牵牛中曾发现过两例具有阶段变白特性的突变体, 但它们都是受核基因诱导的质体突变^[2], 这与返白系受胞质基因控制的突变产生的原因不同。返白系是一种新的特异材料。小麦返白系的研究具有重要价值。它可以做为研究叶绿体遗传、突变代谢、植物基因表达与调控等方面的好材料。目前对返白系农艺性状及遗传育种方面研究较多, 更深入的工作尚未见报道。

突变往往伴随着一系列生理生化及叶绿体超微结构变化, 然而由于突变发生的原因不尽相同, 从而也导致这些变化的多样性。目前已在多种植物中发现了形形色色的色素突变体, 如白化苗^[3]、黄绿突变体^[4]、微绿突变体^[5]以及对光^[6]、温等环境条件敏感的突变体。在很多材料中已观察到因突变而产生的叶绿体结构异常, 如突变影响基粒的形状和垛叠层数, 嗜银小滴的数目及大小等结构。

小麦返白系是一种新的突变类型。我们在其返白阶段(包括返白过程和复绿过程)对叶绿体超微结构进行了观察, 发现该材料在返白阶段叶绿体结构有一个退化而后又逐步恢复的过程。

文稿收到日期: 1989-06-07

1) 国家自然科学基金资助课题。

2) 现在山西省生物研究所工作。

1 材料和方法

材料 以冬小麦矮变1号(作为对照)及其突变体返白系为材料,于10月中旬播于大田,翌年春季2~3月份,返白系开始发生阶段性返白,届时根据叶色变化程度采样进行下列研究。

电镜样品的制备和观察 电镜样品采用一般植物材料常用的固定、染色方法。将叶片切成0.5mm×5mm大小的细长条,先在4℃下用2.5%戊二醛溶液(pH6.8)进行固定,后再用1%的锇酸在室温条件下固定2.5h,固定后样品经丙酮逐级脱水,然后用Epon812和丙酮进行渗透包埋。包埋块经LKB-V型超薄切片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色后,在JEM100-CX II型透射电镜下观察并拍照。

2 结果

电镜观察结果表明:在返白阶段,返白系叶细胞的超微结构与对照矮变1号相比,发生了明显变化。这种变化主要反映在叶绿体结构的改变上,并与叶色的变化相一致。

矮变1号叶绿体的结构(图1-b)为椭球形,内部有排列较规则的基粒片层和基质片层,基质中分布有叶绿体核糖体、少数的淀粉粒和嗜锇小滴,这些结构特点与大多数植物叶片中叶绿体结构相类似^[7]。在返白系发生返白期间,矮变1号叶绿体结构未见明显异常现象发生,叶细胞结构也正常(图1-a,图1~4见图版)。

同矮变1号相比,返白阶段返白系叶绿体的结构表现出许多显著的差异,其叶绿体结构有一个退化和恢复的动态变化过程。返白初期(3月1日始),叶绿体向细胞中央分布(图2-a),且在细胞内排列混乱,这与矮变1号细胞中叶绿体沿细胞壁排列的方式(图1-a)形成鲜明的对比;叶绿体内部结构也开始出现鲜明的变化,基粒弯曲,类囊体略有肿胀,嗜锇小滴大量增多,内部结构开始降解。之后,基粒在叶绿体中排列混乱,垛叠层数改变,或异常增多(可能由大的基质片层相互垛叠而成),或减少(图2-a, 2-b, 2-c),这与正常叶绿体中基粒的结构不同(图1-b)。返白中期(3月8日),叶绿体内部结构进一步破坏,基粒逐渐消失,叶绿体内部呈现明显的空化现象,出现数目不等的空腔(图3 a~e)。到全白时期(3月16日),整个叶绿体内部的结构几乎全部解体,叶绿体核糖体也看不到了,只能见到有外膜轮廓的、低电子密度的囊泡状结构,这就是完全退化的叶绿体(图4)。在复绿过程中(4月1日~4月19日),叶绿体电子密度增高,片层膜迅速形成,且垛叠形成基粒,排列较规则,数目逐渐增多,叶绿体核糖体也可见,叶绿体整个结构很快恢复(图5-a, 5-b, 5-c),整个细胞结构也正常(图5-d)。

在观察叶绿体超微结构的同时还发现:返白过程中看不到中央大液泡,而复绿时却很快出现(图2-a, 3-c, 4, 5-d);在全白叶片细胞中,也见不到正常的线粒体存在,推测线粒体也会有相应的变化。典型的细胞中,只能看到一些囊泡状结构(图4);在整个返白阶段,细胞核观察不到明显的变化(图2-a, 3-e, 5-d)。

3 讨论

返白阶段,小麦返白系叶绿体内部结构发生解体,内部出现空泡化现象,甚至整个叶

绿体变成低电子密度的囊泡状结构；在复绿时，其内部结构开始重建，这一变化是在自然条件下发生的一个可逆的动态变化过程。在这一点上与以往在其它叶绿体突变体材料如类胡萝卜素合成有缺陷的玉米突变体W-3, Pas8686^[6]、甘蔗黄化苗^[8]、大麦黄绿突变体^[1]、大麦缺少基粒的和富于基粒的突变体^[9]等不同，这些突变体质体结构尽管不正常，如基粒垛叠层数、形状排列方向改变或有空化现象及类囊体肿胀等异常现象发生，但叶绿体结构的变化远远达不到象返白系返白叶片中的退化程度，而且它们的结构变化在正常条件是不可逆的。

嗜饿小滴的主要成分是叶绿体内的亲脂性脂类物质，它的生理功能可能是起脂类仓库的作用。当片层进行合成需要脂类时，便从嗜饿小滴调用，嗜饿小滴逐渐减少；而当叶绿体衰老，片层解体时，嗜饿小滴体积逐渐增大。因此，有人认为嗜饿小滴的增多是脂类合成与膜系统形成之间的代谢作用不平衡而产生的^[10]。返白初期观察到大量的嗜饿小滴簇集在一起，而片层膜结构消失，这种变化可能与衰老叶片中退化叶绿体的结构特点有某些相似之处^[11]，反映了叶绿体内膜脂代谢的不平衡。

完全变白的细胞叶绿体结构与玉米突变体W-3在光下受破坏后的结构也有相似之处，即几乎都没有内部结构存在^[6]。

返白阶段，叶绿体结构发生如此深刻的可逆变化，可能是受内部和外部某些因素的影响所致，其原因有待进一步探讨。

版图及符号说明：

N——细胞核	No——核仁	CP——叶绿体	M——线粒体
V——液泡	DP——退化叶绿体	D——淀粉粒	g——基粒
O——嗜饿小滴	C——叶绿体内空化小泡	r——叶绿体核糖体	

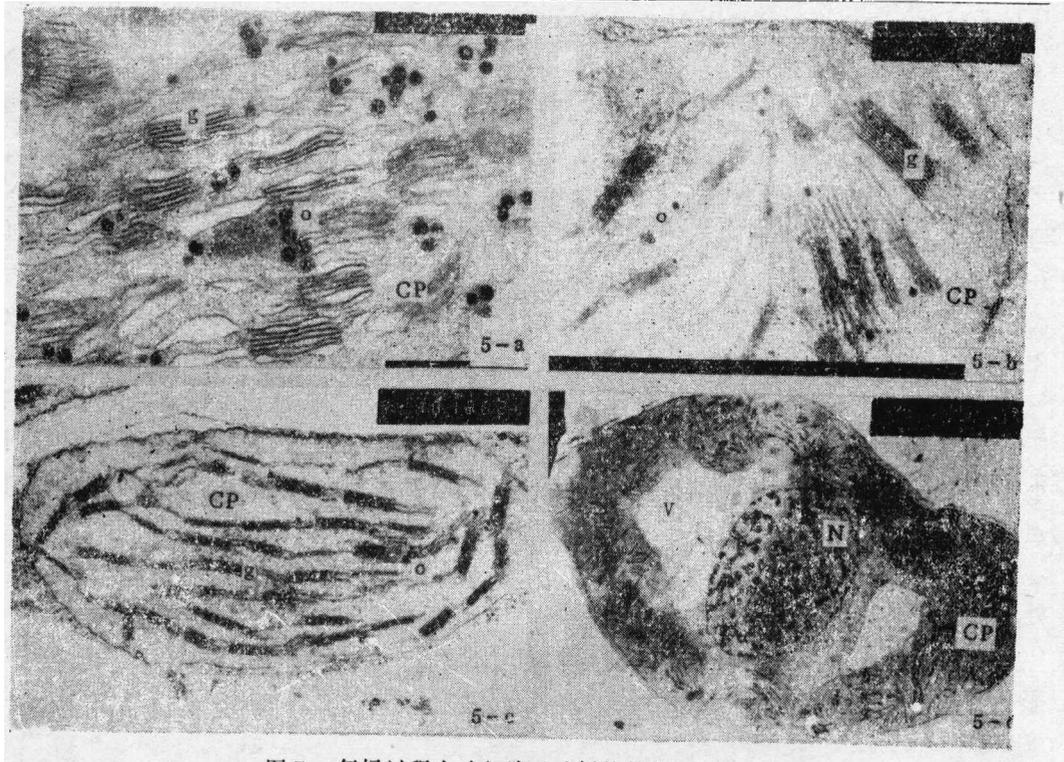


图5 复绿过程中叶细胞及叶绿体结构的变化

- 5-a. 示叶绿体局部结构, 嗜铁小滴数目减少, 片层膜出现, $\times 36000$;
 5-b. 示叶绿体局部结构, 基粒和核糖体出现, 电子密度增加, $\times 29000$
 5-c. 示叶绿体, 其内部结构已恢复, 基粒排列整齐, 仅有少量的嗜铁小滴存在, $\times 14000$;
 5-d. 示完全复绿后的叶细胞结构, 其叶绿体沿细胞边缘排布, 可见到中央大液泡, $\times 2900$

参 考 文 献

- 1 李丕举, 封如敏. 小麦特异材料——返白系的初步研究. 陕西省遗传学会论文摘要. 1985, 53~56
- 2 Rudolf H. A special type of nucleus-plastid-interactions: nuclear gene induced plastome mutations. In: George Akoyunoglou, Horst Senger ed. *Plant Biology*. V.2: Regulation of Chloroplast Differentiation. New York, Alan R. Liss, Inc., 1986. 455~466
- 3 孙敬三, 王敬驹, 朱至清. 水稻白化苗质体的亚显微结构. 中国科学, 1974 (6): 626~634
- 4 Li Ji-geng, Li Yu-xiang, Geng Yu-xuan et al. Studies on the chlorophyll-protein complexes and the chloroplast ultrastructure of the barley mutant. *Plant Sci. Lett.*, 1983, 30: 312~326
- 5 Archer E K, Bonnett H T. Characterization of a virescent chloroplast mutant of tobacco. *Plant Physiol.*, 1987, 83: 920~925
- 6 Bachmann M D, Robertson D S, Bowen C C, et al. Chloroplast development in pigment deficient mutants of maize, I. Structural anomalies in plastids of allelic mutants at the W3 locus. *J. Ultrastruct. Res.*, 1967, 21: 41~60
- 7 Menke W. Structure and chemistry of plastids. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1962, 13: 27~44
- 8 孙敬三, 朱至清, 王敬驹等. 甘蔗黄化突变体质体的发育和超微结构. 植物学报, 1981, 23 (1): 1~5
- 9 Niels C N, Robert M S, Henningsen K W, et al. Composition and function of thylakoid membranes from grana-rich and grana-deficient chloroplast mutants of barley. *Plant Physiol.*, 1979, 63: 174~182

- 10 石田政弘, 植田胜已, 远山 益主编, 黄宗甄译. 光合作用器官的细胞生物学, 北京: 科学出版社, 1986. 126
- 11 Wittenbach V A, Ackerson R C, Giaquinta R T, et al. Changes in photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase, proteolytic activity, and ultrastructure of soybean leaves during senescence. *Crop Sci.*, 1980, 20: 225~231

Studies on the Albescent Mechanism in the Mutant

'Stage Albinism Line of the Winter Wheat'

I. Observation of the Ultrastructure of Chloroplast during Albescent Stage

Su Xiaojing Wang Peihong

(Plant Biochemistry Research Laboratory)

Abstract The changes took place in the chloroplast structural degeneration in the course of the mutant leaf color turning from green to white. At the early stage of the albescent process, numerous osmiophilic globules appeared, grana arrangement in the mutant chloroplast became disorder, and the number of stacks in each granum changed.....abnormally increased or decreased, and thylakoid in the grana became swelled. At the middle stage of the albescent process, some cavities could be observed in the chloroplast, and the interior structure of the chloroplast was gradually decomposed. At the white leaf stage, the whole structure of the chloroplast changed to a vesicle with low electronic density. However, it was found that these alternations could be reverse in the process of the white leaves turning into the green ones. And the interior structure reappeared, grana formed rapidly and arranged in order, and the whole structure of chloroplast renewed normally. Meanwhile, some changes in the interior structure such as the central sap vesicle in the leaf cells took place during the albescent stage.

Subject words chloroplast, mutant type, ultrastructure, *Triticum aestivum*

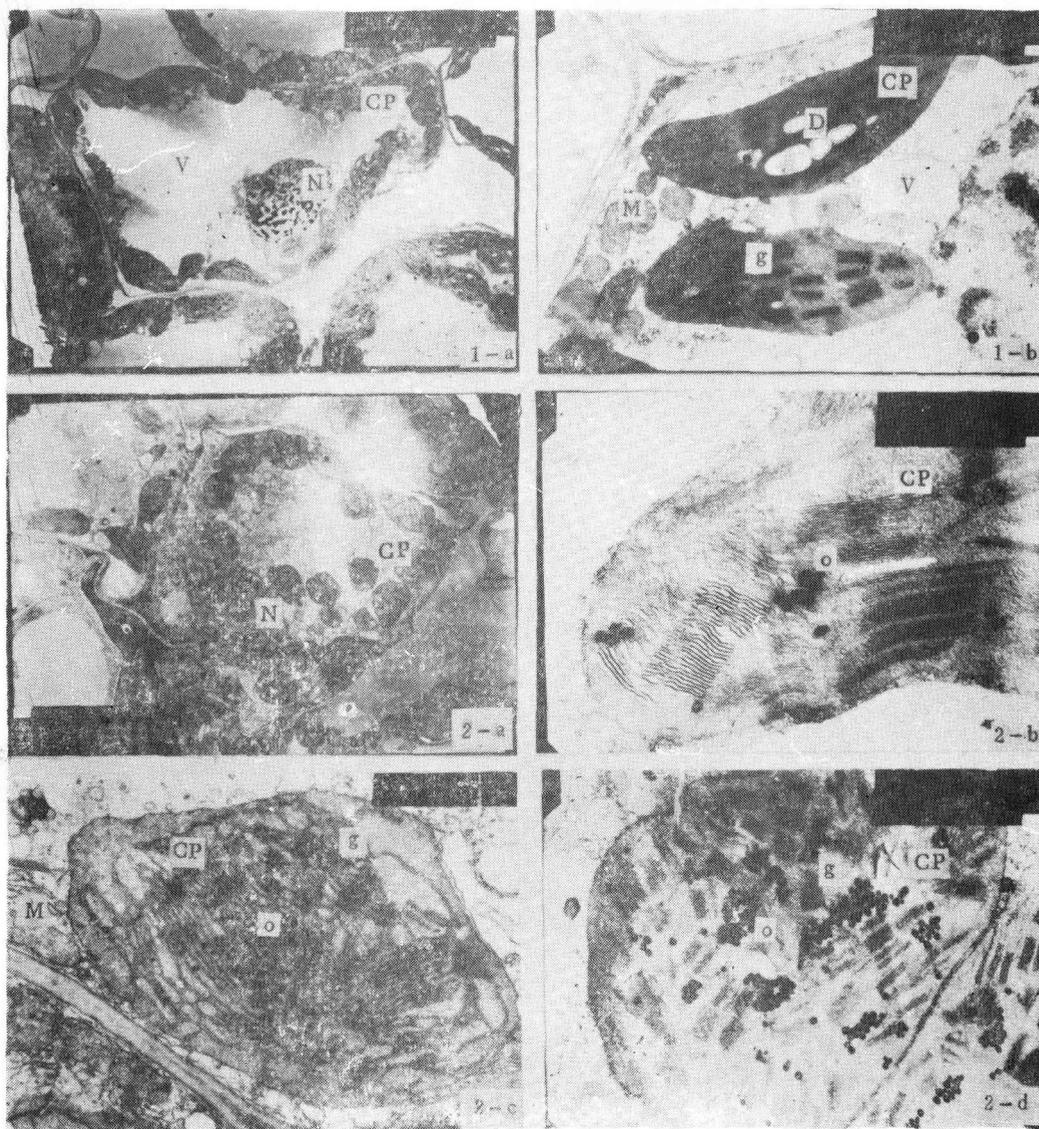


图 1, 2

图 1 对照矮变 1 号叶细胞及叶绿体结构

1-a. 示叶细胞亚显微结构 $\times 1400$;

1-b. 示叶绿体结构, 内有正常的基粒, 并可见淀粉粒, $\times 10000$

图 2 返白初期返白系叶细胞及叶绿体结构的变化

2-a. 示叶细胞亚显微结构, 分布在细胞边缘的叶绿体和线粒体向细胞中央移动, 并排列紊乱, 看不到中央大液泡, $\times 1900$

2-b. 示叶绿体局部结构, 类囊体略有肿胀, 基粒弯曲且开始降解, 嗜铁小滴积累, $\times 29000$

2-c, 2-d. 示叶绿体结构, 嗜铁小滴大量簇集, 基粒结构发生变化, $\times 14000$

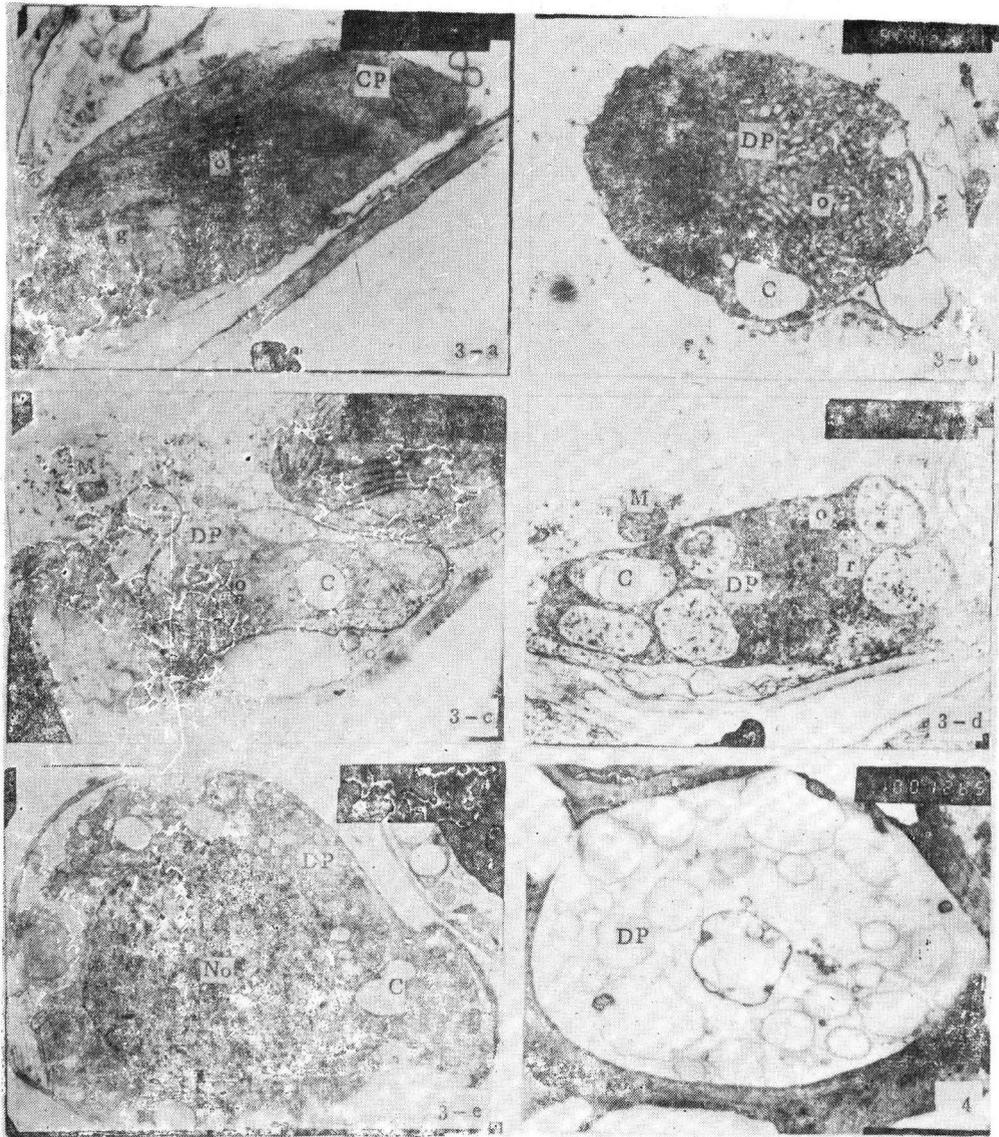


图 3, 4

图 3 返白中期返白系叶细胞及叶绿体结构的变化

3-a. 示叶绿体结构, 基粒消失, 内部仅有少数大的片层膜 × 19000;

3-b. 示叶绿体结构, 内部有大小不等的小空泡, × 19000;

3-c, 3-d. 示叶绿体结构, 小空泡增大, 核糖体数目减少, 电子密度降低, × 7200;

3-e. 示叶细胞亚显微结构, 中央有大的细胞核和核仁, 细胞边缘有退化的叶绿体 (DP) 和线粒体, 没有中央大液泡; × 3600

图 4 全白时期返白系叶细胞亚显微结构

整个细胞变成低电子密度的结构, 叶绿体内部结构完全消失, 呈囊泡状, 可见到的线粒体数目减少, 且嵴退化; 看不到中央大液泡 (膜) 的存在, × 1000