

小麦突变体返白系返白机理的研究¹⁾

I、返白阶段叶绿素代谢变化研究

苏小静²⁾ 汪沛洪 陈毓荃

(植物生化研究室)

摘 要 与对照矮变1号相比, 返白过程中返白系叶片内叶绿素(Chl)和类胡萝卜素(Caro)含量降低, 复绿过程中, 两种色素的含量都升高, 但在整个返白阶段中, 返白系Chl/Caro比值始终低于对照矮变1号, 说明类胡萝卜素含量的降低不是造成叶片变白的原因。对叶绿素生物合成中的两个关键中间产物 δ -氨基乙酰丙酸(ALA)和原叶绿素(酸酯)[Pchl(ide)]的分析发现, 在返白过程中, ALA相对积累, 而Pchl(ide)含量降低, 推测在返白过程中叶绿素合成受阻, 这可能是返白系叶色在返白过程中褪绿变白的原因之一。

关键词 叶绿素代谢, 突变体, 小麦

叶色的褪绿与叶色素, 主要是叶绿体色素的变化有关, 在已发现的多种色素突变体中, 既有因叶绿素合成直接受到影响而导致的褪绿, 也有因叶绿素存在的环境发生改变, 如对叶绿素起保护作用的类胡萝卜素(Caro)的代谢异常, 类胡萝卜素含量下降而使叶绿素在光下遭到光氧化破坏, 间接造成叶片的失绿^[1-3]。本文从色素代谢的角度, 对返白系在返白阶段叶片的褪绿变白, 而后又能复绿的机制进行了初步的探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

以冬小麦矮变1号(作为对照)和返白系为材料, 详见前文^[4]。

1.2 方法

1.2.1 叶绿素(Chl)、原叶绿素(酸酯)[Pchl(ide)]及类胡萝卜素(Caro)含量的测定

用80%丙酮提取叶色素, 在120-A型比色计上进行测定^[5, 6]。

1.2.2 光谱分析

1) 80%丙酮色素提取液光谱分析: 用UV-810型紫外可见分光光度计在320~700nm波长范围内进行扫描。

2) 水提液色素光谱分析: 叶片用Tricine-山梨醇缓冲液(pH8.4)研磨后,

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。

1000rpm离心10min, 上清液在Backmann DU-7紫外可见分光光度计上扫描, 波长范围为200~700nm。

1.2.3 δ -氨基乙酰丙酸(ALA)含量测定

叶片用4%三氯乙酸在沸水浴中加热15min, 提取ALA, 再加3mL 0.5M磷酸缓冲液(pH7.2), 然后加3滴乙酰乙酸乙酯, 再在沸水浴中加热15min, 使之与ALA进行缩合。冷却后与等体积改进的艾利希试剂(又称艾利希-汞试剂)反应, 15min后测定其OD553, 消光系数 $\epsilon = 7.45 \times 10^4 \text{ L/mol cm}^{[7]}$ 。

2 结果及分析

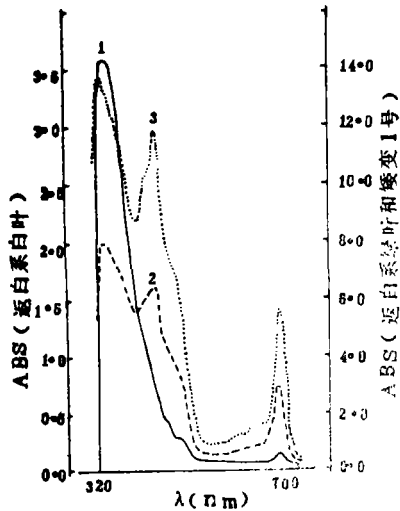


图1(a) 80%丙酮提取液色素光谱

1——返白系白叶, 2——返白系绿叶, 3——矮变1号

2.1 返白阶段叶色素组成及含量变化

丙酮可以将全部叶色素提取出来, 其光谱可以反映叶色素的组成变化。图1(a)是叶片80%丙酮提取液光谱分析。由此可见, 返白系与矮变1号相比, 除了叶绿素吸收峰(663nm)较低外, 并没有明显的差别。

此外, 用Tricine-山梨醇缓冲液提取叶色素, 得到与蛋白质结合的色素, 其光谱同样可以反映色素组成的变化。如图1(b)所示, 叶绿素的吸收高峰在685nm处。由于叶绿素与蛋白质的结合, 叶绿素吸收峰波长与游离状态的叶绿素吸收峰波长(663nm)相比, 发生了红移。除了吸收峰值较小外, 返白系叶片与矮变1号相比, 没有其它明显的变化。

光谱分析说明: 返白阶段叶色素的组分没有发生明显的改变。

对叶色素的定量分析发现:

返白阶段叶绿素及类胡萝卜素含量均有明显的变化(如图2, 3)。返白过程中, 叶绿素和类胡萝卜素含量都下降, 完全变白的叶片中含量最低; 而复绿过程中二者含量又都逐渐增加。返白阶段色素含量的变化与叶色的变化相平行。

已经发现的许多突变体中,

很多都与类胡萝卜素代谢异常有关。类胡萝卜素被认为具有保护叶绿素分子的作用^[8]。返白过程中叶绿素含量的降低是否与类胡萝卜素含量的降低有关呢? 下表是叶绿素与类胡萝卜素在返白阶段变化的比较, 从此表可见, 返白系中 chl/carot 始终低于对照矮

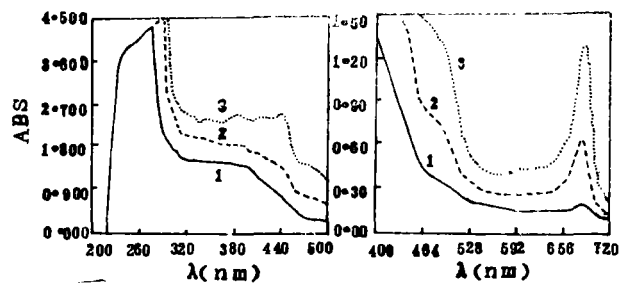


图1(b) 水提取液色素光谱

1——返白系白叶, 2——返白系绿叶, 3——矮变1号

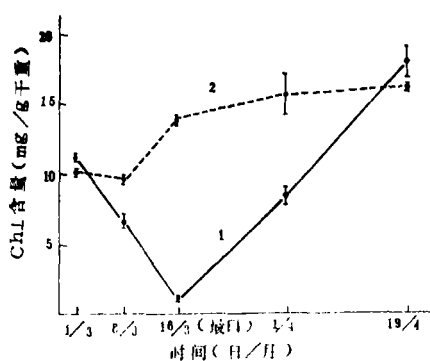


图2 返白阶段叶绿素(chl)含量的变化

1——矮变1号, 2——返白系

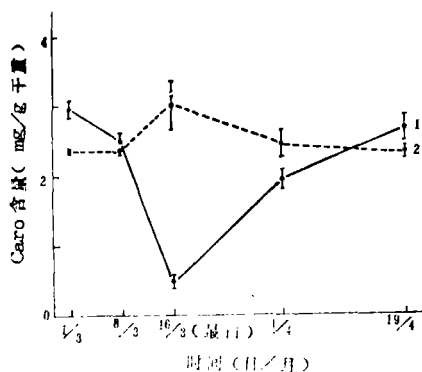


图3 返白阶段类胡萝卜素(Caro)含量的变化

1——矮变1号, 2——返白系

变1号, 这说明, 在返白系返白过程中, 尽管类胡萝卜素含量降低, 但其降低幅度始终小于叶绿素, 也就是说, 类胡萝卜素的量在这一时期足以保护叶绿素分子免遭光氧化的破坏。所以, 类胡萝卜素含量的降低不是返白现象的原因, 而可能是返白后产生的结果。

附表 返白阶段叶绿素与类胡萝卜素(chl/caro)相对变化规律

材 料	3月1日	3月8日	3月16日 (最白)	4月1日	4月19日
返白系	3.775 ±0.272	2.675 ±0.053	2.323 ±0.267	4.286 ±0.163	6.731 ±0.310
矮变1号	4.269 ±0.101	3.978 ±0.166	4.584 ±0.622	6.397 ±0.190	6.952 ±0.380

既然类胡萝卜素变化不是叶片褪绿变白的原因, 那么叶绿素含量的降低可能就与其自身代谢变化有关。这可能由以下两方面的原因造成: 一是合成受阻, 二是分解加快。下面通过研究叶绿素合成的两个前体的变化规律, 探讨返白阶段叶片褪绿与叶绿素合成的关系。

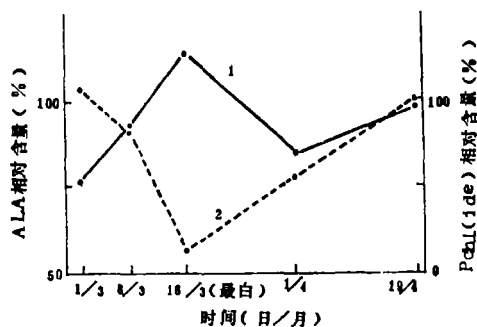


图4 返白阶段原叶绿素(酸酯)[Pchl(ide)]和
δ-氨基乙酰丙酸(ALA)含量的变化
1——ALA, 2——Pchl(ide)

2.2 叶绿素合成的变化

原叶绿素(酸酯)是叶绿素a的直接前体, 实验发现, 随叶片发生返白, 其含量降低, 而复绿时又升高, 这与叶绿素含量的变化(图2)相一致(图4所示)。

我们进一步分析了叶绿素合成中较早出现的、也是比较关键的中间产物δ-氨基乙酰丙酸(ALA)的变化情况。通过分析可以看到(图4), 返白系叶片在返白阶段ALA含量有变化, 与矮变1号比较, 返白过程中返白系叶片内ALA相对积累, 完全变白的叶片中达到最大, 复绿时又迅

速下降,之后略有所回升。

结合对叶绿素、原叶绿素(酸酯)及 δ -氨基乙酰丙酸含量变化的分析,推测在返白过程中返白系叶片中叶绿素的合成在ALA之后的某些步骤中受阻,这可能是返白系在返白阶段叶绿素含量下降的原因之一。

3 讨 论

返白过程中,返白系小麦苗体内 δ -氨基乙酰丙酸相对积累,原叶绿素(酸酯)和叶绿素含量降低,这可能是由于叶绿素的合成在ALA之后的某些步骤中受到阻碍。Smith^[9]报道,在叶绿素合成途径中,原叶啉在叶绿体基质中合成后,随即与膜结合,之后的中间产物Mg-原叶啉单酯和长波长金属叶啉、原叶绿素(酸酯)均是膜结合的。尽管由原叶啉到Mg-原叶啉单酯和长波长金属叶啉的反应可以幸免于相当程度的质体的破坏,但由Mg-原叶啉单酯和长波长金属叶啉到原叶绿素(酸酯)的反应对叶绿体结构的瓦解比较敏感。我们对叶绿体超微结构的观察发现叶绿体内片层膜结构在返白过程中破坏^[4]。返白过程中叶绿体内片层膜降解和叶绿素合成受阻之间是什么关系,现在还不得而知,但可以推测,叶绿体内部片层膜结构的破坏,必然会影响到叶绿素的合成。

叶绿体中的类胡萝卜素除了作为天线色素捕获光能外,还有一个相当重要的作用,就是保护叶绿素分子在强光下免遭光氧化作用的破坏。玉米W-3白化苗、Pas8686^[10]及Lycopenic^[2]等突变体产生的原因都是由于类胡萝卜素代谢异常,类胡萝卜素含量降低造成的。返白阶段返白系叶片中类胡萝卜素含量随叶绿素的降低也降低,但是,叶绿素含量与它的比值始终都低于对照矮变1号,因此认为,类胡萝卜素的量仍足以保护叶绿素免受光氧化的破坏,同时,类胡萝卜素含量的变化不是返白系叶片褪绿的原因。这也说明返白系返白的原因与上述突变体不同。有关这一问题值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Koski V M, Smith J H C. Chlorophyll formation in a mutant, white seedling-3. *Arch Biochem Biophys*, 1951, 34: 189~195
- 2 Oresenigo M, Rascio N, Bonatti P M. Fine structure of the etioplast in two mutants of maize. *J Ultrastruct Res*, 1976, 55: 42~49
- 3 Wallace R H, Schwarting A E. A study of chlorophyll in a white strain of *Helianthus annuus*. *Plant Physiol*, 1954, 29: 431~436
- 4 苏小静, 汪沛洪. 小麦突变体返白系返白机理的研究 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): 73~77
- 5 波钦诺克X H著, (荆家海 丁钟荣译). 植物生物化学分析方法. 北京: 科学出版社, 1981. 255~259
- 6 Myers J, Graham J R, Wang R T. Protochlorophyll (ide) in a bluegreen alga. *Plant Physiol*, 1982, 69: 594~550
- 7 Keith Stobart and Ibraheem Ameen-Buckari. Photoreduction of photochlorophyllide and its relationship to 5-aminolaevulinic acid synthesis in leaves of dark-grown barley (*Hordeum vulgare*). In: George Akoyunoglou, Horst Senger ed. "Plant Biology, V.2: Regulation of Chloroplast Differentiation" New York: Alan R Liss Inc, 1986. 71~80

- 8 Anderson I C Roberston D S, Role of carotenoids in protecting chlorophyll from photodestruction, *Plant Physiol*, 1960, 35: 531~534
- 9 Smith B B, Rebeiz C C Chloroplast Biogenesis XXIV Intrachloroplastic localization of the biosynthesis monoester, and accumulation of protoporphyrin IX, magnesium-protoporphyrin and longer wavelength metalloporphyrins monoester, and longer wavelength metalloporphyrins during greening, *Plant Physiol*, 1979, 63: 227~231
- 10 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

Studies on the Albrescent Mechanism in Mutant

“Stage Albinism Line of Winter Wheat”

I. Changes in the Chlorophyll Metabolism

During the Albescence Stage

Su Xiaojing Wang Peihong chen Yuquan

(*Plant Biochemistry Research Lab*)

Abstract Compared with “Aibian No.1”, the content of Chl (chlorophyll) and Caro (carotenoid) in the leaves of albinism line decreased in the albescence process, but increased in the regreening process. And the ratio between Chl/Caro in the mutant leaves was always lower than that in the control——“Aibian No.1” during the albescence stage, thus, indicating that the decrease in the content of Caro is not the main reason to cause the leaves become white or albescence. It has been found through an analysis of the content of ALA(δ -aminolevulinic acid) and Pchl (ide) (protoporphyrinogen (ide)) two precursors of the biosynthesis of Chl, that the content of ALA relatively accumulated, but that of Pchl (ide) decreased during the albescence process. Thus, it can be deduced that the biosynthesis of Chl was blocked in the albescence process. This might be one reason that the leaf color of the albinism line of winter wheat can turn from green to white in the albescence process.

Key words chlorophyll metabolism, mutant, wheat