

大豆光合生理生态的研究

第11报 不同类型大豆叶绿素 —蛋白复合体比较研究*

张明春

苗以农

(天津商学院食品系)

(东北师范大学生物系)

摘 要

本文对野生型 (*Glycine Soja Sieb et Zucc.*)、中间型大豆 (*G. gracilis skv.*) 和栽培大豆 (*G. max (L.) Merr.*) 的叶绿素体类囊体膜叶绿素蛋白复合体进行了比较研究。离心制备不同类型大豆叶绿体类囊体膜, 用 SDS——聚丙烯酰胺凝胶电泳从不同类型大豆叶绿体类囊体膜分离出五条叶绿素——蛋白复合体带和一条游离色素带。根据电泳迁移率、吸收光谱、荧光发射光谱测定, 五条叶绿素——蛋白复合体带有一条属于光系统 I (CPI); 一条属于光系统 II (Cpa); 三条属于捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体。不同类型大豆的捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体占全部叶绿素蛋白复合体的相对含量依次是: 野生型 > 中间型 > 栽培型。捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体带的 Chl a/b 值依次为: 野生型低于中间型, 中间型低于栽培型。野生型、中间型大豆与栽培大豆相比, 具有阴生植物的某些特性。

前 言

杨文杰、苗以农(1982)报导, 野生大豆单位叶片鲜重叶绿素含量高于栽培大豆, 叶绿素 a/b 值低于栽培大豆, 野生大豆与栽培大豆相比, 具有阴生植物的某些光合特性。我们考虑, 野生大豆与栽培大豆相比, 可能具有相对多的捕光叶绿素蛋白复合体, 使之能利用漫射光和弱光进行光合作用, 保证光合产物的供给。如能利用野生型大豆作为亲本之一, 选育可在密植情况下能相对有效利用田间因叶片互相遮阴而产生的漫射光、弱光的大豆品种, 将为提高大豆产量提供一条新的途径。我们在这方面做了以下工作, 分离、提取野生型、中间型、栽培型大豆的叶绿体类囊体膜, 对不同类型大豆的叶绿素

本文于1987年8月14日收到 This paper was received in Aug. 14, 1987.

* 本文得到张正东、赵凤章、王延庆、张雪香、唐树延、余保贵、丁忠田、徐豹老师的帮助, 在此一并表示衷心的感谢!

——蛋白复合体定性鉴定，相对含量比较和 Chla/b 值比较，目的在于能在叶绿素——蛋白复合体水平上对不同类型大豆的光合结构进行一个初步的了解，为大豆高产育种、扩大亲本利用范围，进一步开发利用野生型、中间型大豆提供实验根据。

材 料 和 方 法

供试材料野生型大豆 (*Glycine Soja*, sieb. et Zucc.) 有 50028、50420、龙 79—0621、龙 79—1807；中间型大豆 (*G. gracilis* skv.) 有 50835、50855、50448。栽培型大豆 (*G. max* (L.) Merr.) 有小金黄 1 号和铁丰 18。

方法：(1) 大豆叶绿体类囊体膜的制备

按储钟稀 (1980) 等方法。

(2) 叶绿素浓度测定

按 Arnon 方法 (1949)，用岛津 UV—210 型分光光度计测定。

(3) 增溶

用 10% 甘油、0.3M Tris、2% SDS (pH 8.8) 的样品增溶液增溶，SDS: Chl = 10:1 或 SDS: Chl = 7.5:1。

(4) 电泳

采用瑞典 LKB 型电泳仪，用不连续系统 SDS——聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳方法。丙烯酰胺与 NI N'——亚甲基双丙烯酰胺 = 44:0.85 (W/W)。凝胶浓度为 11%；浓缩胶为 4%。浓缩胶缓冲液，分离胶缓冲液，上槽电极缓冲液，下槽电极缓冲液参考储钟稀 (1980)，张正东 (1981) 方法。4℃ 下电泳 4—5 个小时。

(5) 用日立 MPF—4 型荧光分光光度计测定凝胶电泳板叶绿素——蛋白复合体带的室温下荧光发射光谱。

(6) 用日立 557 型双波长、双光束分光光度计测定凝胶电泳板叶绿素——蛋白复合体带的室温下吸收光谱。

(7) 用岛津 CS—930 型薄层层析扫描仪，透射方式进行原位扫描，

扫描波长为 675nm，测定凝胶电泳板中各条叶绿素——蛋白复合体中叶绿素的分布。

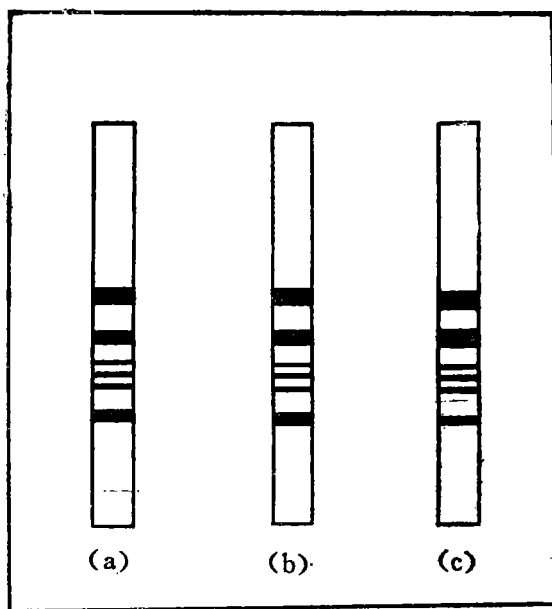


图 1 野生型 (a) 中间型 (b) 栽培型 (c) 大豆叶绿体 SDS—PAGE 模式图

Fig. 1 SDS-PAGE graph of chloroplast membrane of wild soybean (a), semi-wild soybean (b), cultivated soybean (c).

(8) 用岛津UV—210型分光光度计测定凝胶电泳板中捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体带的 chl a/b 值, 按 Arnon (1949) 方法测定。

结 果 和 分 析

1. 大豆叶绿体类囊体膜上叶绿素——蛋白复合体种类。

用上述方法, 从野生型、中间型、栽培型大豆的叶绿体类囊体膜均分离出五条叶绿素——蛋白复合体带和一条游离色素 (图 1)。

各叶绿素——蛋白复合体带按其电泳迁移率、室温下荧光发射光谱和吸收光谱测定, 由上而下分别为: CPI (绿色)、LHCP¹、LHCP² (黄绿色)、CPa (绿色)、LHCP³ (黄绿色)、FC (绿黄色)。

2. 大豆类囊体膜叶绿素——蛋白复合体在室温下的荧光发射光谱

CPI 带在 684 nm 处无荧光发射, 这符合光系统 I 的荧光发射特性。LHCP¹、LHCP²、LHCP³, 均在 684 nm 处有最强的荧光发射, CPa 荧光发射与 LHCP 荧光发射相似, 这符合光系统 II 的荧光发射特性。野生型、中间型、栽培型大豆的叶绿素——蛋白复合体各带荧光发射特性相同。荧光发射光谱见图 2、3。

3. 大豆类囊体叶绿素——蛋白复合体室温下吸收光谱。

(1) 根据室温下吸收光谱

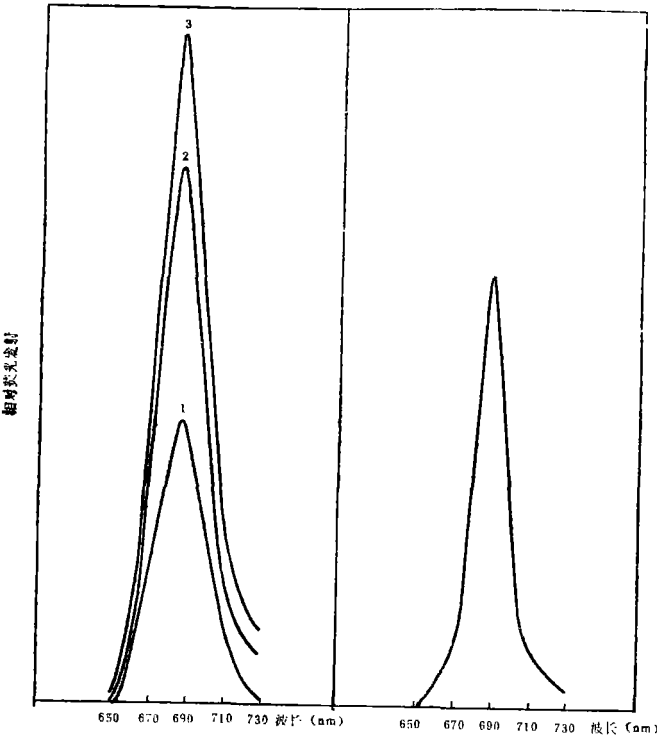


图2 LHCP¹、LHCP²、LHCP³ 在室温下的荧光发射光谱
(激发波长为436nm)

图3 CPa在室温下的荧光发射光谱
(激发波长为436nm)

Fig. 2 Fluorescence emission spectra of LHCP¹, LHCP², LHCP³ at room temperature
(Excitation light, 436nm)

Fig. 3 Fluorescence emission spectra of Cpa at room temperature
(Excitation light, 436nm)

红区吸收峰在 676 nm 左右的特性, CPI 带相当于前人分离的光系统 I 带。CPI 带吸收光谱见图 4。野生型、中间型、栽培型大豆 CPI 带吸收光谱特性相同。

(2) 根据吸收光谱红区只有一个 670 nm 吸收峰的光谱特性, CPa 带相当于前人分离的光系统 II 带。CPa 带吸收光谱见图 5。野生型、中间型、栽培型大豆 CPa 带光谱

特性相同。

(3) 根据吸收光谱红区吸收峰在 670 nm 和 652 nm 左右的光谱特性, LHCP 带相当于前人分离的捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体。LHCP 带吸收光谱见图 6。670 nm/625 nm 吸收峰高之比为野生型<中间型<栽培型, 说明捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体中叶绿素 b 为野生型>中间型>栽培型。具体 Chl a/b 值见表 2。

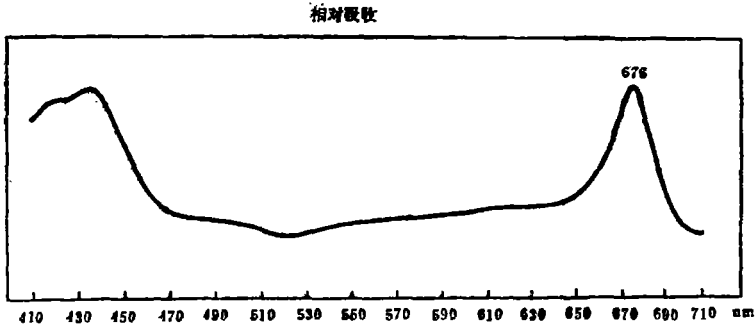


图4 CPI在室温下的吸收光谱
Fig.4 Absorption spectra of CPI at room temperature

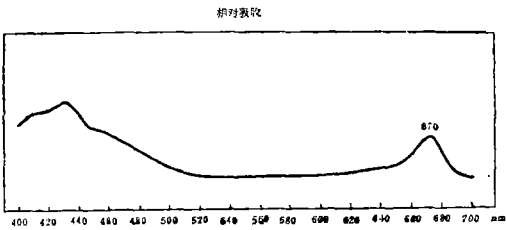


图5 CPa在室温下的吸收光谱
Fig.5 Absorption spectra of CPa at room temperature

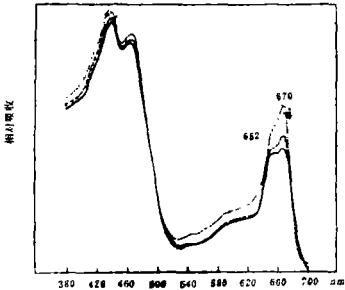


图6 LHCP³在室温下的吸收光谱
——野生型大豆; ----中间型大豆;
.....栽培型大豆
Fig.6 Absorption spectra of LHCP³ at room temperature
——wild soybean; ----semi-wild soybean;cultivated soybean

4. 大豆类囊体膜叶绿素——蛋白复合体的叶绿素分布。

用岛津 cs—930 型薄层层析扫描仪分别对野生型、中间型、栽培型大豆各叶绿素——蛋白复合体带在波长 675nm 扫描,见图 7、8、9。从叶绿素在各复合体带之间的分布看, CPI 带叶绿素占叶绿素总量的相对含量为: 野生型<中间型<栽培型; 捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体带叶绿素占叶绿素总量的相对含量为: 野生型>中间型>栽培型。具体数据见表 1。

表 1 大豆含叶绿素带占叶绿素总量的百分数*

Table 1 The percentage of each chl-containing bands of soybean in amount of total chlorophyll

大豆 Soybean	带 Bands	CPI	CPa	LHCP	FC
野生型 Wild		19.7	6.9	39.2	34.2
中间型 Semi-wild		21.9	6.9	37.2	34.0
栽培型 Cultivated		23.6	6.9	34.9	34.6

* 表中数字为各型平均值，为 3 次实验平均值
The figures in the table are the a mean value of three types and three experiments.

5. 大豆类囊体膜捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体的 Chl a/b 值。

根据测试的野生型大豆的 50028、50420、龙 79—0620 和龙 79—1807；中间型大豆的 50835、50855、50448；栽培型大豆小金黄 1 号、铁丰 18 两个品种，得出各型大豆类囊体膜捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体的 Chl a/b 值，见表 2。大豆类囊体膜捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体 Chl a/b 值依次为：野生型低于中间型、中间型低于栽培型。

表 2 大豆捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体的 chl a/b 值
Table 2 The chl a/b ratio of LHCP complexes

大豆 Soybean		带 Band	LHCPs	
			实测平均值 *	各型平均值
野生型 (Wild)	50028		1.27	1.26
	50420		1.28	
	龙79—0620		1.24	
	龙79—1807		1.26	
中间型 (Semi-wild)	50835		1.32	1.34
	50855		1.35	
	50448		1.36	
栽培型 (Cultivated)	小金黄 1 号 Xiaojin huang 1.		1.54	1.50
	铁丰 18 号 Tiefeng 18		1.46	

* 表中数字为三次实验的平均值
The figures in the table are the mean value of three experiments.

讨 论

野生型、中间型、栽培型大豆的叶绿素——蛋白复合体 CPI 带和 CPa 带吸收光谱特性相似，而从捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体吸收光谱可看出，670nm/652 nm 吸收峰高之比不同：野生型<中间型<栽培型。野生型、中间型、栽培型大豆捕光叶绿素 a/b 蛋白

复合体的 Chl a/b 值为：野生型低于中间型，中间型低于栽培型。

经光密度扫描发现，不同类型大豆捕光叶绿素 a/b 蛋白复合体占全部叶绿素——蛋白复合体的相对含量为：野生型>中间型>栽培型。这表明，不同类型大豆光合反应中心复合体相同，而捕光叶绿素——蛋白复合体在进化过程中有变化，各类型大豆有区别。野生型、中间型大豆与栽培大豆相比具有某些阴生植物特性。

经本实验对不同类型大豆类囊体膜叶绿素——蛋白复合体进行比较研究，对野生型、中间型、栽培型大豆叶绿素——蛋白复合体水平上的光合结构有了一个初步的了解，进一步结合光合特性深入地研究将为扩大亲本利用范围，大豆高产育种，开发利用野生型、中间型大豆资源提供更有用的资料。

参 考 文 献

- [1] 匡廷云等 1985《中国植物生理学术交流与教学讨论会资料》
- [2] 杨文杰、苗以农 1983《大豆科学》第2卷；第2期
- [3] 张正东等 1981. Photobiochem. photobiophys. 2:329
- [4] 储钟稀 1980《植物生理学报》6:163
- [5] 戴云玲等 1984《光合作用研究进展》P15—29
- [6] Hayden, D. B.; Hopkins, W. G.; 1977; Can. F. Bot; 55.:2525—2529
- [7] Ogawa, T. F. obata and k. shibata 1966. Biochem. Biophys. Acta 112. 223—234.

更 正

《大豆科学》第7卷第2期发表的“大豆硼素营养的调查研究一文，表1和表4中所列“植株体各部位含硼量的分析方法”，误写：“原子吸收分光光度计测定”，应改为“干质化甲亚胺比色法”，特此更正。

STUDY ON PHYTIO-ECOLOGY OF PHOTOSYNTHESIS IN SOYBEAN

11. A COMPARTIVE RESEARCH ON THE CHLOROPHYLL-PROTEIN COMPLEXES OF THE DIFFERENT TYPES OF SOYBEAN

Zhang Mingchun

(Food Department, Tianjin Commercial University)

Miao Ying

(Biology Department, Northeast Normal University)

Abstract

This paper is concerned on the studies of the chlorophyll-protein complexes on the thylakoid membrane of the wild soybean (*Glycine soja sieb. et Zucc.*) semi-wild soybean (*G. gracilis skv.*) and cultivated soybean (*G. max. (L.) Merr.*). Thylakoid membranes of different types of soybean have been isolated and prepared by centrifugation. Five chlorophyll-protein complexes and one free chlorophyll band complexed to SDS (FC) have been obtained from thylakoid membranes of different types of soybeans by SDS-PAGE. According to the measurement of the mobility of SDS-PAGE, absorption spectra, fluorescence emission spectra, we discovered that one chlorophyll-protein complex is belong to the PSI (CPI); another is belong to the PSII (CPa) and the other three are LHCP. Quantity of the LHCP of different types of soybeans account for total chlorophyll-protein complexes ranged in the order as follows: wild soybean > semi-wild soybean > cultivated soybean. The Chla/b ratios of LHCP ranged in the order as follows: wild soybean < semi-wild soybean < cultivated soybean. Compared with cultivated soybean, the wild soybean and semi-wild soybean have some characteristics of the shade plants. The present comparative research on the chlorophyll-protein complexes of the different type of soybean provides experimental data for further utilizing the resources of wild soybean and semi-wild soybean in soybean breeding.