

叶黄素循环与天线蛋白和膜脂 MGDG

周 峰

(南京晓庄学院 生物化工与环境工程学院 江苏 南京 211171)

摘 要:介绍了叶黄素循环的过程、功能和调节,尤其是重点阐述了近 10 a 在叶黄素循环与天线蛋白、膜脂 MGDG 之间的最新研究成果以及有关叶黄素循环机制的学说。

关键词:叶黄素循环;捕光天线 II;单半乳糖甘油二酯

中图分类号:Q 945 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)12-0184-03

植物的光合作用不足以完全利用吸收的光量子时易产生光抑制,甚至光破坏,这就需要激活某种机制以降低能量的捕获,或通过一个无伤害的机制消耗过多的能量,以避免强光对光合器官的损伤,这对于植物的生存和生长是非常必要的。越来越多的证据表明,植物体内的叶黄素循环参与耗散过量激发光能的过程^[1]。叶黄素循环与非辐射能量耗散的关系已成为当前光合作用研究领域的一个热点,它对于阐明植物的光抑制机理、抗逆境机理以及提高光能转化利用效率都有十分重要的意义^[2]。

1 叶黄素循环的过程

通常所说的叶黄素循环是指在植物体内,双环氧紫黄质(violaxanthin, V)在其脱环氧化酶的催化下经中间产物环氧玉米黄质(antheranxanthin, A)形成玉米黄质(zeaxanthin, Z),而玉米黄质经其环氧化酶的作用又可形成紫黄质的过程。但实际上,自然界中存在 3 种叶黄素循环,即紫黄质循环(V_x-cycle),它存在于所有的植物和绿藻中;硅甲藻黄素循环(Ddx-cycle),它存在于一些藻中;环氧化黄体素循环(Lx-cycle),它存在于某些植物中。在这 3 种循环中,强光都诱导各自循环的紫黄质、硅甲藻黄素和环氧化黄体素去环氧化;相反,弱光都诱导各自循环的玉米黄质、硅藻黄素和黄体素发生环氧化作用^[3]。研究最为广泛的还是紫黄质循环,即通常所说的叶黄素循环。该循环的正反应是强光下在紫黄质脱环氧化酶(VDE)催化下, V 二次脱环氧化顺序形成 A 和 Z,逆反应是在暗中和弱光下叶黄素循环组分以紫黄质为主,当叶片吸收的光能超过光合作用利用时,产生过剩光能, V 在玉米黄质环氧化酶(ZE)转化成 A 和 Z^[4]。叶黄素循环的功能主要是耗散

PSII 的过剩能量,此外,还有保护脂类,调节类囊体膜的物理性质的功能。

2 叶黄素循环的调节

紫黄质脱环氧化酶分布在类囊体囊腔侧,受囊腔侧 pH 调控。在 pH > 6.5 时,呈自由状态,在囊腔侧可自由移动,活性为零;当 pH 达到其最适值时(约为 5.2),脱环氧化酶与类囊体膜结合并起催化作用^[6]。已有的研究表明,玉米黄素环氧化酶的最适 pH 为 7.0,位于类囊体膜的基质表面,其催化反应主要在暗中和弱光下进行,其活性则依赖 O₂ 和还原的辅酶 II (NADPH),并不受跨膜 pH 梯度调控。强光会抑制玉米黄素环氧化酶的活性^[7-8]。

3 叶黄素循环与天线蛋白

天线色素蛋白复合体,是高等植物内一类捕获光能,并将其迅速传至光合反应中心引起光化学反应的色素蛋白系统,又称捕光天线蛋白。它包括内周天线蛋白(CP43 和 CP47)和外周天线蛋白(light harvesting complex, LHC), LHC 在 PSII 和 PSI 中分别称为 LHCII 和 LHCI。LHCII 包括大量天线(Major LHCII, 即 LHCIIb)和微量天线(Minor LHCII),微量天线按其在凝胶电泳中的表观分子量的不同,又被分别称为 CP29、CP26 和 CP24。

Ruban 等^[9]认为,天线色素复合体上高能态的猝灭主要是指通过 LHCII 的聚集来猝灭激发能的过程,这个过程受类囊体腔的酸化和叶黄素循环双重调控,通过玉米黄质或者紫黄质与玉米黄质的比例变化及 LHCII 的质子化作用,改变自身分子聚集态的构形,形成一种更有利的热耗散形,把过剩的激发能以热的形式耗散掉。Grudziński 等^[10]发现顺式结构的叶黄素能促进 LHCII 的聚集,而反式异构体的作用相反。

叶黄素循环存在于植物类囊体膜的天线色素蛋白复合体上^[11]。早期的研究认为,微量 LHC II 中的 CP26 和 CP29 与 qE 有关,是叶黄素循环主要的位点,CP26 和 CP24 可能是 PSII 中主要的玉米黄素的结合蛋白。但 Andersson 等^[12]发现反义抑制 CP26 和 CP29 的拟南芥中,光系统 II 的功能受到了影响,但光合速率未见下降,并且在光胁迫下依然采用 qE 型的非光化学

作者简介:周峰(1978),男,博士,江苏省高校“青蓝工程”优秀青年骨干教师培养对象,现主要从事植物生理生化研究工作。E-mail: zfbcas@163.com。

基金项目:江苏省高校“青蓝工程”优秀青年骨干教师资助项目(2010)。

收稿日期:2011-03-30

淬灭。高光强诱导的紫黄质转化成玉米黄质没有受到影响,但是叶黄素库的含量略有下降。并由此推断 CP26 和 CP29 不是非光化学淬灭的反应部位。近年来有研究者提出^[13],由 PsbS 基因编码的色素蛋白复合物 CP22 可能才是非光化学淬灭的反应位点。缺失 PsbS 基因的突变体不能形成质子梯度以及类囊体膜中依赖玉米黄质的状态转换,而这些都是 qE 所必需的。单细胞绿藻 *Dunaliella* 和高等植物一样,通过紫黄质的脱环氧化和 Cbr 的积累来响应光胁迫。Cbr 是和早期光诱导蛋白 (Elips) 同源的一类基因。Banet 等^[14]证明, Cbr 是 LHC II 中的一部分,其主要功能是影响到富含玉米黄素和黄体素的 LHC II 聚集体的结构和稳定性,这样的聚集体可能使 PSII 避免遭到过度激发能态下的光破坏。

4 叶黄素循环与膜脂关系

高等植物类囊体膜脂主要有 4 种: 单半乳糖甘油二酯(MGDG)、双半乳糖甘油二酯(DG DG)、硫代异鼠李糖甘油二酯(SQDG)和磷脂酰甘油(PG)。其中 MGDG 含量最多,约占 50%。因为 MGDG 分子具有锥形结构,所以难以形成脂双分子层,而是容易形成反向六角相(即 H_{II}相)。MGDG 是去环氧化酶(VDE)的辅酶,VDE 存在于富含 MGDG 的膜区域,催化去环氧化反应。Latowski 等^[15-17]通过一系列试验,建立了 PC-MGDG 脂体重组体系研究 VDE 酶动力学以及辅因子,结果表明,当 MGDG 浓度低于 30%时,PC-MGDG 脂溶液呈透明状;当 MGDG 浓度高于 35%,酶活性明显下降,溶液变混。这是由于脂融合和 MGDG 聚集造成的,聚集的 MGDG 会使样品沉淀,这些会影响蛋白的构象状态和寡聚结构,降低蛋白的活性。磷脂酰乙醇胺(PE)和 MGDG 一样,脂分子头部较小尾部较大时,发生负弯曲,分子形状呈锥形或楔形,具有 H_{II}结构,但 MGDG 的头部是没有电荷的,而 PE 的头部是带电荷的^[18]。MGDG 和 PE 对 VDE 活性都是有效的,这说明应该是脂分子形成的结构而不是脂分子头部对 VDE 活性是必须的,VDE 是通过氢键而不是离子键与膜结合的^[17]。LHCII 周围有高浓度的 MGDG,暗中,LHCII 是非聚集状态,VDE 结合在 LHCII 上。强光下,LHCII 发生聚集,LHCII 的聚集能促使 MGDG 形成脂双层,这是由于 LHCII 与 MGDG 相互作用的缘故。但 LHCII 周围多余的 MGDG 还是形成 H_{II}结构并在 LHC/MGDG 双层结构附近,一旦这些 H_{II}结构形成,紫黄质就从 LHCII 离开进入到 MGDG 结构域,同时,由于强光下叶绿素 b 合成减少,LHCII 的含量会降低,这会加大形成 H_{II}结构,从而加速叶黄素循环反应^[19]。

5 叶黄素循环模型

Jahns 等^[3]提出叶黄素循环的可能机制与模型,该学说认为,光诱导的状态转换与类囊体膜的构象状态有关。暗适应状态下,紫黄质与 LHCII 结合,在从暗适应到强光的状态转换下,类囊体膜囊腔侧 pH<6.0, LHCII 发生聚集,MGDG 形成 H_{II}结构,VDE 结合到膜

上。同时,原来与 LHCII 相结合的紫黄质会释放,去与 MGDG 形成的结构域相结合。一旦二者结合,紫黄质会在 VDE 作用下,去环氧化形成玉米黄质,而玉米黄质会重新与 LHCII 结合,去替换出那些与其它天线蛋白结合更紧密的紫黄质,从而形成叶黄素循环,实现了强光下的光保护。当从强光到暗适应后,类囊体膜囊腔侧 pH 升高,VDE 失活,玉米黄质转变为紫黄质。但现在对玉米黄质环氧化酶是否也需要的 H_{II}结构还不清楚。最新的研究还表明,叶黄素自身的结构特点,即其极性和疏水性的转换,在与膜蛋白 LHCII 和在 NPQ 的变构调节中起重要作用^[20]。

参考文献

- [1] 匡廷云.光合作用原初光能转化过程的原理与调控[M].南京:江苏科学技术出版社,2003:132-134.
- [2] Lin R C, Xu C G, Li L B et al. Xanthophyll cycle and its molecular mechanism in photoprotection[J]. *Acta Botanica Sinica* 2002, 44(4): 379-383.
- [3] Jahns P, Latowski D, Strzalka K. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle; the role of antenna proteins and membrane lipids[J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 2009, 178(7): 3-14.
- [4] Esteban R, Becerril J M, Iñáñigo J, et al. Lutein epoxide cycle more than just a forest tale[J]. *Plant Signaling Behavior* 2009, 4(4): 342-344.
- [5] Horton P, Johnson M P, Pérez-Bueno M L, et al. Photosynthetic acclimation: does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states[J]. *Fehs*, 2008, 275: 1069-1079.
- [6] Kalitubo L, Rech J, Jahns P. The role of specific xanthophylls in light utilization[J]. *Planta*, 2007, 225: 423-439.
- [7] Reinhold C, Niczyporuk S, Beran K C, et al. Short-term down-regulation of zeaxanthin epoxidation in *Arabidopsis thaliana* in response to photo-oxidative stress conditions[J]. *Biochim. Biophys. Acta* 2008, 1777: 462-469.
- [8] Takahashi H, Watanabe A, Tanaka A, et al. Chloroplast NAD kinase is essential for energy transduction through the xanthophyll cycle in photosynthesis[J]. *Plant Cell Physiol* 2006, 47: 1678-1682.
- [9] Ruban A V, Horton P. The xanthophyll cycle modulates the kinetics of nonphotochemical energy dissipation in isolated light-harvesting complexes intact chloroplasts, and leaves of spinach[J]. *Plant Physiol* 1999 119:531-542.
- [10] Grudziński W, Matula M, Sielewiesiuk J, et al. Effect of 13-*cis* violaxanthin on organization of light harvesting complex II in monomolecular layers[J]. *Biochim Biophys Acta* 2001, 1503(3): 291-302.
- [11] Lin R C, Xu C G, Li L B, et al. Xanthophyll cycle and its molecular mechanism in photoprotection[J]. *Acta Botanica Sinica* 2002, 44(4): 379-383.
- [12] Andersson J, Walters R G, Horton P, et al. Antisense inhibition of the photosynthetic antenna proteins CP29 and CP26: implications for the mechanism of protective energy dissipation[J]. *The Plant Cell* 2001, 13: 1193-1204.
- [13] Li X P, Björkman O, Shih C, et al. A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting[J]. *Nature* 2000, 403: 391-395.
- [14] Banet G, Pick U, Zamir A. Light-harvesting complex II pigments and proteins in association with Cbr, a homolog of higher-plant early light-inducible proteins in the unicellular green alga *Dunaliella*[J]. *Planta* 2000, 210(6): 947-955.
- [15] Latowski D, Kostecka A, Strzalka K. Effect of monogalactosyl-diacylglycerol and other thylakoid lipids on violaxanthin de-epoxidation in liposomes[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2000, 28: 810-812.
- [16] Latowski D, Kruk J, Bunda K, et al. Kinetics of violaxanthin de-epoxidation by violaxanthin de-epoxidase, a xanthophylls cycle enzyme is

浅谈红松嫁接技术

赵常海¹, 沈艳茹²

(1. 宁安市林业局 黑龙江 宁安 157400; 2. 宁安市林业局 小北湖母树林林场, 黑龙江 宁安 157433)

中图分类号: S 791.247 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2011)12-0186-01

红松为松科松属常绿针叶乔木。幼树树皮灰红褐色, 皮沟不深, 近平滑, 鳞状开裂, 内皮浅驼色, 针叶 5 针/束, 长 6~12 cm, 粗硬, 树脂道 3 个, 叶鞘早落, 球果圆锥状卵形, 长 9~14 cm, 直径 6~8 cm, 种子呈倒卵状三角形, 花期 6 月, 球果翌年 9~10 月成熟。该树种喜光性强, 随树龄增长需光量逐渐增大。

由于红松结实年龄较晚, 通过人工嫁接可以使红松提前结果、提前见效, 以获得良好的经济效益。通过以往经验, 对红松嫁接技术谈几点见解。

1 采穗及种穗贮藏

母树选择是进行无性繁殖的关键, 要选择结实能力强的优良母树, 采集接穗应在嫁接当年的春季树液停止流动期间进行, 以提高嫁接成活率。采条部位应选取树冠上部枝条, 每棵母树可采 20 个枝条, 分别捆绑, 放在苗木窖中待用, 如果窖内温度过高可放入冰块使窖内温度保持在 0~5℃之间即可, 防止干萎、发霉和芽萌动。

2 砧木选择及嫁接

2.1 砧木选择

红松嫁接砧木以 45 cm 左右高的红松移植大苗为宜, 砧木保证无病虫害, 生长健壮。

2.2 接穗准备

嫁接前 1 d, 取出穗材枝条, 选取粗细适当, 顶芽饱满, 无病虫害的穗材, 距顶芽基部 8 cm 左右剪下, 顶端保留 8~10 束针叶, 将其余针叶沿针叶方向拔掉备用。

2.3 嫁接方法

髓心形成层贴接法嫁接成活率较高, 具体操作为: 接穗保留针叶下部 1 cm 左右逐渐向下通过髓心平直切削, 削面长 5 cm 左右, 于削面背面下端削一小斜切面, 在砧木的 1 a 生主枝的合适部位, 将针叶拔掉后, 切削与接穗长度相等的切面, 深度到形成层。将接穗迅速与砧木结合后, 用塑料条绑紧。提高嫁接成活率的措施是在嫁接过程中要做到快、平、准、稳、严。选择适宜的嫁接时间, 宜在气温适当及砧木形成层细胞最活跃的时期(粗生长高峰期)嫁接, 避开松脂分泌旺盛时期, 削穗时还要不时用酒精棉球擦刀具上的松脂。

3 嫁接后管理

嫁接苗管理的好坏直接影响嫁接成活率和嫁接苗的生长。嫁接前清除圃地内的杂草, 嫁接后除正常的除草松土外, 应尽量减少圃地内的作业, 由于嫁接后接穗的芽较嫩, 人为活动多时容易损伤。嫁接后 90 d 左右, 接穗与砧木愈合良好后可划开塑料绑条, 同时剪去砧木主枝顶尖及部分侧枝顶芽, 嫁接成活后要进行 7~8 a 的树势管理, 使接穗处于主枝地位。加强肥水管理, 有利于促进母树的正常生长发育, 提早开花结实, 提高种子产量和质量。

第一作者简介: 赵常海(1975-), 男, 中专, 助理工程师, 现从事森林调查工作。

收稿日期: 2011-03-30

regulated by membrane fluidity in model lipid bilayers[J]. Eur J Biochem, 2002, 269: 4656-4665.

[17] Latowski D, Åkerlund H E, Strzalka K. Violaxanthin de-epoxidase, the xanthophyll cycle enzyme, requires lipid inverted hexagonal structures for its activity[J]. Biochemistry, 2004, 43: 4417-4420.

[18] 周峰, 华春, 张薇. 膜脂的分子组装及其与膜蛋白的相互作用[J].

生命的化学, 2009, 29(1): 49-52.

[19] Simidjiev I, Stoylova S, Ameritsch H, et al. Self-assembly of large ordered lamellae from non-bilayer lipids and integral membrane proteins in vitro[J]. Proc Natl Acad Sci, 2000, 97: 1473-1476.

[20] Ruban A V, Johnson M P. Xanthophylls as modulators of membrane protein function[J]. Archives Biochemistry Biophysics, 2010, 504: 78-85.

Relation Between Antenna Protein, Membrane Lipids MGDG and Xanthophyll Cycle

ZHOU Feng

(School of Biochemical and Environmental Engineering Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171)

Abstract: The process, function and adaptation of xanthophyll cycle were introduced in this paper. It was emphasized about new research achievement of relation between antenna protein, membrane lipids MGDG and xanthophyll cycle in recent ten years. The theory of xanthophyll cycle mechanism was also presented.

Key words: xanthophyll cycle; LHClI; MGDG