

稀土处理对甘蔗离体叶绿体 光化学反应的影响*

邓兆活 徐声杰 邝炎华

(农业生物系)

提 要

选用了三种稀土浓度对甘蔗三个不同品种进行了试验,在稀土浓度为100~200ppm范围内处理甘蔗离体叶绿体,其循环及非循环光合磷酸化活力均比对照高,其中品种342在400ppm浓度下仍未出现抑制现象。它能提高磷酸化的偶联程度、增加 $p/2e$ (或 p/o) 比值、促进质子吸收和提高ATP酶活性,表明稀土元素处理对光合能量转化有促进作用

关键词 甘蔗; 稀土元素; 光合磷酸化; $p/2e$ 比值; ATP酶

引 言

施用稀土元素促进作物生长发育早在30年代已开始研究。苏联Drobkov^{[1,2][1,2]}以混合稀土及单一稀土对碗豆、萝卜、黄瓜等植物的生长发育、产量及品质等的作用进行了比较系统的试验研究。试验表明,这些植物对微量稀土很敏感。混合稀土、铈、镧、钇分别使碗豆荚莢增产45.6%、26.0%、30.1%和39.6%。保加利亚 ИBaHoBa 研究了三氯化铈($CeCl_3$)对小麦、甜菜、大豆和番茄生长及产量的影响,观察到低剂量的三氯化铈对植物生长有促进作用,50mg/L的三氯化铈促进大豆光合作用最明显。最近菲律宾 Velasco 等^[1,6]用稀土及铈对椰子树的生长及形态变化方面进行了研究。

我国在70年代也开始了这方面的研究工作^[1,9]。稀土元素对光合作用方面的作用也有一些报道。王兰仙等^[2]用镧、铈、镨的氯化物处理固氮鱼腥藻观察到稀土元素能加速光合放氧。光合固氮及 CO_2 同化。刘汉图等^[6]报告用300ppm浓度的硝酸稀土处理番茄和水稻等作物,光合速率比对照提高3.6~24.3%,经稀土处理的叶绿体对DCPIP光还原能力比对照提高11.5~12.7%。稀土对甘蔗增产增糖方面近年来也开展了一些田间试验研究工作^{[1][6][7]}。但稀土元素如何对甘蔗生长发育及糖分转化积累发生影响的机

* 本文承蒙李明启教授审阅原稿, 谨此致谢

1988年1月16日收稿

理研究尚未有报道。最近我们在这方面进行了一些探索,着重在稀土对甘蔗叶绿体光化学反应方面进行了较系统的研究,初步结果报告如下。

材 料 和 方 法

对三个甘蔗 (*Saccharum officinarum*) 品种进行了试验,它们是71/210、57/423和342,分别代表低糖、中糖和高糖品种特性。用作试验材料的甘蔗均采自四个月龄的盆栽苗。采样时均采第三叶位(自上而下)的叶片。叶片采摘前都经预照光1~2小时,将样本迅速投入冰瓶、带回实验室以备试验。

叶绿体的制备:将采取的叶片,先经水洗擦干、撕去中脉、剪碎、冷冻片刻,加入适量的STN缓冲液(含0.4mol/L蔗糖,50mmol/L Tris-HCl pH7.8,100mmol/L NaCl,在组织捣碎机上迅速捣碎,四层纱布过滤后,在3000转/分速度下离心1分钟,弃去残渣,上清液再在5000转/分速度下离心2分钟,弃去上清液,用少量上述STN缓冲液轻洗沉淀表面,用同样缓冲液悬浮沉淀后置冰浴备用(以上所有操作都在4℃下进行)。

叶绿体处理:混合硝酸稀土(以下简称RE)由河南省商丘冶炼化工厂供给,产品 $R(NO_3)_3$ 含氧化稀土33.7%,叶绿体稀土处理采用三种浓度,分别是100、200、400ppm。取上述叶绿体悬浮液3.6ml,加入0.4%稀土溶液0.1~0.4ml,再加STN缓冲液至最后总体积为4.0ml。在10℃下保温20分钟,处理结束后,再次离心,用同样缓冲液悬浮沉淀,冰浴保存备用。

光合磷酸化活力的测定:光合磷酸化反应液组成如下:Tris-HCl pH7.8 1.0mmol/L $MgCl_2$ 1.0mmol/L、 Na_2HPO_4 15mmol/L、PMS 10 μ mol/L(循环系统)或 $K_3Fe(CN)_6$ 100 μ mol/L(非循环系统)、ADP 2.0mmol/L,反应液总体积为2.0ml,内含叶绿素20~30 μ g。反应液平衡至20℃开始照光(5万lux),5分钟后加入20% TCA终止反应。具体方法参照王国强等^[4]。

铁氰化钾光还原的测定反应液组成如下:Tris-HCl pH 7.8 50mmol/L、 $MgCl_2$ 5mmol/L、NaCl 10mmol/L、 $K_3Fe(CN)_6$ 1.0mmol/L,反应液总体积为2.0ml。具体方法依Krogmann和Jagendorf^[15]。

ATP酶活性的测定按蔡剑平萍等^[6]方法;质子吸收的测定按王国强等^[8]方法;无机磷的测定按Ames^[11]方法;叶绿素含量测定按Arnon^[10]方法。

试 验 结 果

(一) 稀土处理叶绿体对光合磷酸化的促进作用

叶绿体悬浮液加入相应浓度稀土处理后与对照叶绿体同时测定循环及非循环光合磷酸化活力,所得结果见表1。

表 1 稀土对甘蔗叶绿体光合磷酸化活力的促进效应

品 种	处理浓度 (ppm)	光合磷酸化活力 ($\mu\text{mol ATP}\cdot\text{mgChl}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)			
		循 环 光 合 磷 酸 化		非 循 环 光 合 磷 酸 化	
		实 测 值	占对照 (%)	实 测 值	占对照 (%)
71/210	对 照	134	100	62	100
	RE100	223	166	68	109
	RE200	186	139	93	150
	RE400	184	137	85	137
57/423	对 照	133	100	120	100
	RE100	185	139	135	113
	RE200	130	98	148	123
	RE400	34	26	87	73
342	对 照	74	100	51	100
	RE100	102	139	86	169
	RE200	131	177	123	241
	RE400	80	108	63	124

从表 1 可见,除 57/423 品种外,100~400ppm 稀土溶液处理的叶绿体循环及非循环光合磷酸化活力均比对照高,57/423 品种用 100ppm 处理亦比对照高,从而推断稀土处理甘蔗叶后,对光能转化方面有促进作用。从实验数据来看,稀土处理对高糖品种 342 光合磷酸化活力提高比其他品种较显著,如 RE200ppm 处理的叶绿体其循环及非循环光合磷酸化活力分别为对照的 1.8 和 2.4 倍。

(二) 稀土处理叶绿体对电子传递与光合磷酸化偶联的促进作用

稀土处理甘蔗的叶绿体后测定了希尔反应活力,观察光合电子传递与 ATP 形成的偶联程度。这个偶联程度通常用 $P/2e$ (或 P/o) 比值来表示,所得结果如表 2 所列。

表 2 稀土对甘蔗叶绿体希尔反应电子传递及偶联光合磷酸化的促进效应*

品 种	处 理 浓 度 (ppm)	$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 光还原 ($\mu\text{mol Fe}^{2+}\cdot\text{mgchl}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	$P/2e$
342	对 照	97	1.05
	RE100	146	1.18
	RE200	198	1.24
	RE400	142	0.89

*表中 $P/2e$ (或 P/o) 比值的推算: P 是表 1 中非循环光合磷酸化“实测值”项; o 是表 2 中“ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 光还原”项的数值除以 2 所得。

表2所列对照样品 $p/2e$ 比值接近1.0, 是正常所得的结果; RE 400 ppm 处理的样品 $p/2e$ 比值低于1.0, 说明较高浓度的稀土处理有碍电子传递与ATP合成的偶联。从表1、2中所列数据来看, 400ppm的稀土处理并未降低希尔反应活力, 但由于ATP的合成相对较少, 使 $p/2e$ 比值下降。RE100、RE200处理均提高了 $p/2e$ 的比值, 说明稀土处理提高了叶绿体的光合磷酸化功能。因为 $p/2e$ 比值的高低是反映叶绿体光合功能强弱的一个重要指标^[14]。

(三) 稀土处理叶绿体对片层膜上 Mg^{2+} ATP酶活力的促进效应

我们在进行测定光合磷酸化活力的同时, 也进行了ATP酶活力的测定, 所得结果如表3。

表3 稀土处理对叶绿体片层膜上ATP酶活力的促进效应

品 种	处 理 浓 度 (ppm)	ATP酶活力($\mu\text{mol ATP} \cdot \text{mgChl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	
		实 测 值	占 对 照 (%)
342	对 照	12.87	100
	RE100	15.90	124
	RE200	23.37	181
	RE400	12.99	101

从表3可见, 100~200ppm稀土处理提高了光合磷酸化偶联因子 CF_1 的活力, 更有力的说明稀土处理提高光合磷酸化活力的原因。

(四) 稀土处理叶绿体对质子吸收的促进作用

我们在进行测定光合磷酸化活力的同时, 也进行了与光合磷酸化活力有密切关系的质子吸收速率, 所得结果如表4。

表4 稀土处理叶绿体对质子吸收的促进效应

品 种	处 理 浓 度 (ppm)	质子吸收速率($\mu\text{mol H}^+ \cdot \text{mgChl}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	
		实 测 值	占 对 照 (%)
342	对 照	35×10^{-5}	100
	RE100	47×10^{-5}	134
	RE200	164×10^{-5}	469
	RE400	23×10^{-5}	66

从表4的结果可见, RE100、RE200ppm浓度稀土处理明显的促进质子吸收, 尤以RE200浓度处理最为明显, 质子吸收速率为对照的4.7倍。RE400ppm浓度处理, 可能因浓度过高, 反而抑制了叶绿体对质子的吸收。

讨 论

(一) 稀土元素对甘蔗光合作用及叶绿体光化反应的影响, 尚未有研究资料报道, 我们用400ppm硝酸稀土在甘蔗分蘖、拔节期喷施叶面, 于处理后不同天数测定对照及处理植株的光合速率。结果表明, 稀土处理的光合速率比对照高(待发表)。

(二) 我们更进一步探索稀土处理甘蔗叶片后光合速率提高的机理, 从能量吸收及转化的角度进行甘蔗叶绿体光合磷酸化、电子传递、质子吸收、ATP酶活性及 $p/2e$ 比值等方面的测定。结果表明, 以上几个指标, 稀土处理样品都比对照高, 进一步说明甘蔗在分蘖、拔节期用稀土处理有增产效果。稀土处理甘蔗叶绿体提高光能利用率的重要指标之一是提高了非循环光合磷酸化 $p/2e$ (p/o)比值。在合适的稀土浓度下, 其 $p/2e$ 比值可达1.18~1.24(对照为1.05), 比对照提高了对光能的利用率(表2)。说明在甘蔗生长期叶面喷施稀土, 对光能利用是有利的。

(三) 田间试验资料表明稀土对甘蔗有增产增糖作用, 但在不同的土壤、气候、品种栽培条件下, 会出现不同的效果^{[1][5][7]}。稀土元素对甘蔗增产增糖所起作用的本质还不清楚, 有认为起微量元素的作用, 也有认为起激素的作用, 众说纷纭, 有待今后进一步研究(王鉴明, 在广东甘蔗学会论文, 未发表, 1986)。从我们的试验及生产上所使用的稀土浓度对植物所起的生理效应方面来看, 认为稀土属微量元素或激素都不太符合这种性质。刘汉图等认为稀土元素在控制某些激素的合成或激活某些激素, 从而调整植株内激素间的比例等方面起作用^[6], 这种观点似乎更接近目前生产及试验的结果, 但还有待实验证实。

引 用 文 献

- [1] 王颖明等. 广东农业科学, 1984, (5) 22—23
- [2] 王兰仙等. 中国稀土学报, 1985, (3) 72—75
- [3] 王国强等. 植物生理学通讯, 1982, (4) 34—37
- [4] 王国强等. 植物生理学报, 1983, (2) 165—173
- [5] 宁加贵等. 湖南农业科学, 1985, (2) 13—16
- [6] 刘汉图等. 湖南师院学报(自然科学版), 1983, (1) 61—70
- [7] 庄学调. 甘蔗糖业(甘蔗分刊), 1986, (1) 27—29
- [8] 蔡剑萍等. 植物生理学通讯, 1980(2) 33—36
- [9] 傅家瑞等. 中山大学学报(自然科学版), 1974, (3) 44—50
- [10] Arnon DI. Plant Physiol, 1949, (24) 1—2
- [11] Ames BN. In Colowick K(ed) Methods in Enzymogy, Academic Press, New York and London, 1966: Vol. VIII (10) 115—116
- [12] Drobkov AA. Compt. Rend. Acad. Sci. USSR, 1937, (17) 265—267 (Chem. Abst. (32) 34554)

- [13] Drobkov AA. Compt. Rend. Sci. USSR, 1941: (32)669-670 (Chem. Abst. (37) 2040 9)
- [14] Hall DO. In Barber J (ed) The Intact Chloroplast, Elsevier, Amsterdam, 1976: P. 135-170
- [15] Krogmann DW et al. Plant Physiol, 1958: (32) 373
- [16] Velasco JR et al. Philippine Journal of Coconut Studies, 1979: 4 (1) 1-13

EFFECTS OF RARE REATHS ON PHOTOCHEMICAL REACTIONS IN SUGAR CANE CHLOROPLASTS

Deng Zhouhuo Xu Shengjie Kuang Yanhua

(Department of Agricultural Biology)

ABSTRACT

The effects of three concentrations of rare earths ($R(NO_3)_3 \cdot 4H_2O$) on photochemical reactions in three cultivars of sugar cane chloroplasts were investigated. Chloroplasts treated with 100-200ppm rare earths showed higher cyclic and non-cyclic Photophosphorylation activities, whereas chloroplasts from cultivar 342 showed no inhibition of photophosphorylation at the 400ppm of rare earths. The treated chloroplasts also showed higher coupling efficiency in $p/2e$ ratio, activity of ATPase and light-induced proton uptake than that of the untreated ones. These results indicate the promotion of photophosphorylation were due to the stimulation of light absorption and its conversion into chemical energy.

Key words: sugar cane, rare earths, photophosphorylation, $p/2e$ ratio, ATPase