植物学通报 2000，17（5）：419～423
Chinese Bulletin of Botany

光质对水稻幼苗蛋白质、氨基酸含量的影响

邓江明 蔡群英 潘瑞炽①
（华南师范大学生物系 广州 510631）

摘要 蓝光对水稻幼苗可溶性蛋白积累的促进效应，在幼苗生长的初期比较明显；第5天，幼苗的可溶性蛋白质、蛋白氮、非蛋白氮以及Asp、Asn、Glu、Gln等游离氨基酸含量都远远高于白光或红光的处理。随着苗龄的增加，蓝光的促进作用减弱，到第17天，各项指标都低于白光处理的幼苗。红光处理的幼苗可溶性蛋白始终低于白光或蓝光的处理，其Asn、Gln两种酰胺含量在第10天以后明显高于同期的白光或蓝光的处理。

关键词 水稻，光质，蓝光，红光，可溶性蛋白，游离氨基酸

Effect of Light Quality on the Contents of Protein and Free Amino Acids in Rice Seedlings

DENG Jiang-Ming CAI Qun-Ying PAN Rui-Chi
（*Department of Biology*, *South China Normal University*, Guangzhou 510631）

Abstract During the early days (5～10 days after germination), blue light promoted the accumulation of soluble protein. Seedlings treated by blue light for 5 days had far more contents of soluble protein, total-N, protein-N, nonprotein-N, Asp, Asn, Glu, Gln than those in seedlings under white or red light. With the seedling-age goes on, the promotion of blue light becomes weaker. 17-day-old seedlings treated by blue light had less content of protein or free amino acids. Compared with blue or white light, red light is less effective to stimulate the accumulation of protein, and after 10 days, the contens of Asn and Gln are more than those in seedlings treated by blue or white light.

Key words *Oryza sativa*, Blue light, Red light, Soluble protein, Free amino acids

光质对高等植物和藻类的碳水化合物和蛋白质代谢有重要的调节作用。已有不少的报道称，蓝光下生长的植物有较高的蛋白质含量（Voskresenskaya 1972；Kowallik 1982；1987；李韶山和潘瑞炽，1995；王晓明等，1999）；这说明光质必定以某种方式影响着植物的氮代谢过程。全面研究不同光质下生长的植物的含氮化合物的含量以及它们之间的相关性，将有助于我们理解光质对植物氮代谢的影响。本实验中，观察了用不同光质处理5 d至17 d的水稻幼苗中可溶性蛋白质、总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量、谷氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺等4种氨基酸含量以及变化的动态过程。

1 材料和方法

1.1 材料培养

① 通讯联系人。Author for correspondence.
作者简介 邓江明，女，1956年生，博士，广东教育学院生物系副教授，研究光质生理，现在美国Minnesota大学园艺系作访问学者。潘瑞炽，男，1923年生，1949年浙江大学研究院毕业，华南师范大学生物系在职教授，博士生导师，兴趣于植物生长物质，光生理学等研究。出版《植物生理学》，《水稻生理》，《植物生长发育的化学控制》等著作。
收稿日期：1999-07-07 接受日期：1999-07-28 责任编辑 程红焱

水稻(*Oryza sativa* L.)湘粳 2 号种子由湖南省生物研究所提供。种子经常规浸种、催芽后在微弱的绿色灯光下,选取萌发整齐的种子(芽长约 0.5 cm),均匀排布在尼龙网框架上,置于白色搪瓷盘内,用木村 B 培养液(倪晋山,1985)培养(其中柠檬酸铁用 Fe-EDTA 代替),培养过程中,从播种至第 4 d 换一次培养液,以后隔天换一次培养液,培养室温度为 25 ± 2 ℃。

1.2 光源和光处理

蓝色、红色和白色的荧光灯均由广州灯泡厂生产,40 W。以蓝色或红色滤光膜(日本ケ□ルテイエス株式会社)包裹灯管后,得到纯蓝光或红光,蓝光最强波长为 465 nm,半高宽为 50 nm。红光最强波长为 660 nm,半高宽为 20 nm;白色荧光灯为复合光。调节开启灯管数目和植物材料与光管的距离,保证不同光质下的植株能获得相同的光强,全部光强均为 24 $\mu mol^{-2} \cdot m \cdot s^{-1}$(光强用 Li-6200 光合作用测定仪测定)。从播种之日即开始对材料进行光照处理,光周期为 12 h 光/12 h 暗。

1.3 可溶性蛋白质含量测定

依 Bradford(1976)考马斯亮蓝染料结合法进行,制作标准曲线的牛血清蛋白为 Sigma 公司产品。

1.4 总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量的测定

依张龙翔等(1985)凯氏定氮法进行。

1.5 Asp, Asn, Glu, Gln 含量的测定

参考牟德海(1997)OPA 柱前衍生反相高效液相法进行。

1.5.1 仪器及试剂 高效液相色谱仪为 Beckman 公司的 System gold 型,色谱柱为 Beckman 公司的 Ultrasphere ODS,5μ (4.6 × 25cm),检测器为 168 型紫外检测器。标准氨基酸均为中科院上海生物化学研究所产品(层析纯),甲醇,乙腈为上海生化试剂厂产品(色谱纯)。邻苯二甲醛(OPA)为 Fluka 产品(层析纯)。

1.5.2 氨基酸提取 取叶片 0.5g,用液氮磨成粉末,加入无水乙醇 5ml 提取片刻,离心(8000 × g, 5min),倾出上清液,残渣再加 5ml 乙醇再次浸提,如此重复 3 次,合并 3 次的浸提液,于 60℃水浴上蒸干,然后再用 0.1 mol/L HCl 2ml 复溶,离心(8000 × g,5min),经 0.2μm 超微滤膜过滤后,即可上柱。

1.5.3 HPLC 工作条件 流动相:A 液:10 mmol/L Na_2HPO_4-NaH_2PO_4 缓冲液,pH 7.5(PB),含 0.3% THF (四氰呋喃)。B 液:PB:甲醇:乙腈 = 50:35:15 (V:V:V)。梯度:在 9 min 内 B 流动相从 10%上升至 80% 。此状态维持 3 min,然后在 5 min 内 B 流动相再从 80%上升至 100%。流速:1.2 ml/min,检测波长:340 nm。

2 结果与分析

2.1 光质对水稻幼苗可溶性蛋白含量的影响

光质对水稻幼苗可溶性蛋白含量的影响见图 1。蓝光处理的第 5 ~ 10 d 的幼苗可溶性蛋白含量高于白光和红光处理的幼苗约 10% ~ 15%,第 17 d,则与白光处理没有明显差异。红光处理的幼苗,在第 5 ~ 7 d,可溶性蛋白含量与白光处理的差不多,第 10 d 以后却迅速下降,第 17 d 仅及同期的白光、蓝光处理的 55%。

http://www.chinbullbotany.com/1132/zz/zzzB.htm

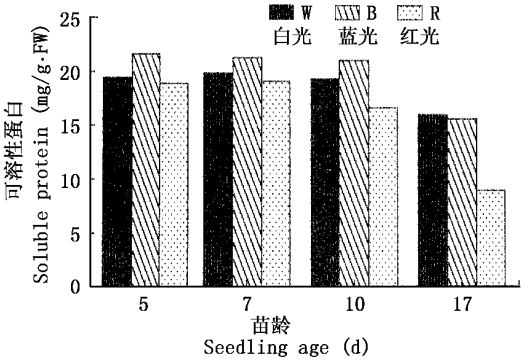


图 1　光质对幼苗可溶性蛋白质含量的影响

Fig.1　Effect of light qualities on the soluble protein content in seedlings

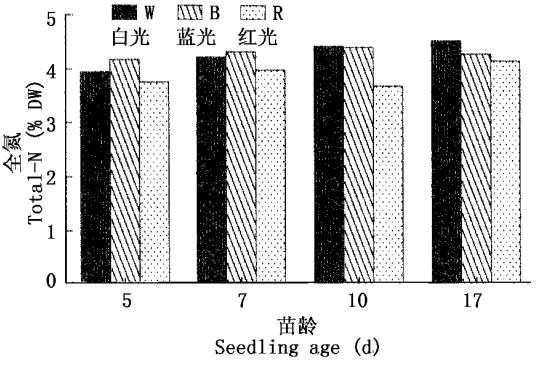


图 2　光质对幼苗总氮含量的影响

Fig.2　Effect of light qualities on the total protein content in seedlings

2.2　光质对水稻幼苗总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量的影响

光质对幼苗总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量的影响见图 2～4。在第 5 d，蓝光处理的幼苗的总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量全都是最高的，分别高于白光幼苗 6%、8%和 5%；到第 7 d 仍略高 2%～3%；第 10 d 以后，蓝光处理的幼苗的蛋白氮水平下降，低于白光处理的幼苗 4%，而非蛋白氮却高出约 10%。红光处理的幼苗的总氮及蛋白氮水平一直低于白光或蓝光幼苗，非蛋白氮水平却在第 17 d 超过了它们。

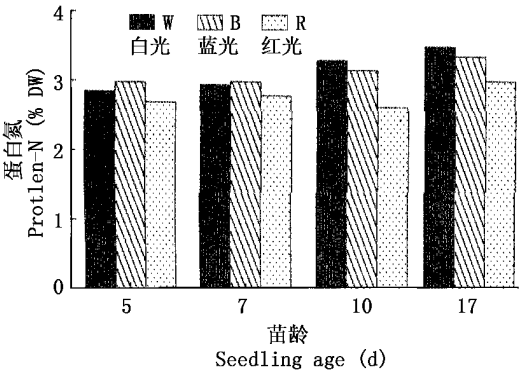


图 3　光质对幼苗蛋白氮含量的影响

Fig.3　Effect of light qualities on the protein nitrogen content in seedlings

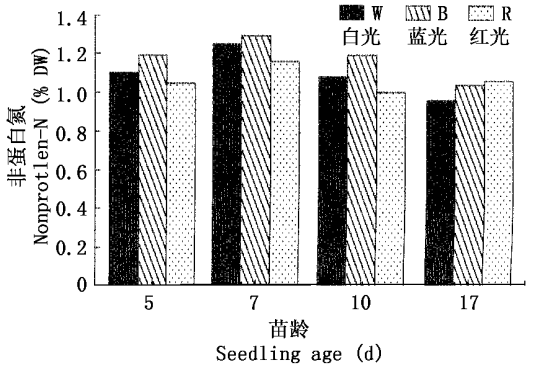


图 4　光质对幼苗非蛋白氮含量的影响

Fig.4　Effect of light qualities on the nonprotein nitrogen content in seedlings

2.3　光质对水稻幼苗 Asp、Asn、Glu、Gln 含量的影响

天冬氨酸（Asp）、天冬酰胺（Asn）、谷氨酸（Glu）、谷氨酰胺（Gln）是与氮代谢关系密切的氨基酸，也是细胞组织中含量最多的氨基酸，在生产实际中，常常将这 4 种氨基酸含量的高低作为植株是否缺氮的指标（潘瑞炽和董愚得，1995）。本实验中测得的水稻幼苗中这 4 种氨基酸占全部游离氨基酸总量的 83%～87%（总氨基酸数据未列出）。而这 4 种氨基酸中又以 Asn 含量最多，它占这 4 种氨基酸总和的 50%～78%，且随着苗龄增大，

其它几种氨基酸含量都有起有伏,而 Asn 却一直增加。这说明,水稻幼苗是以 Asn 作为氨基酸的储藏和运输形式。不同光质处理后,水稻幼苗叶片中 Asp、Asn、Glu、Gln 4 种游离氨基酸含量见表 1。

光质对幼苗氨基酸含量的影响有如下几点规律:

(1)第 5 d,蓝光幼苗中除 Asn 与白光处理的幼苗相近外,其余几种氨基酸都明显高于白光和红光处理幼苗。尤其是 Glu 和 Gln ,分别比白光处理的幼苗的高 18% 和 31%,比红光处理的高 53% 和 89% 。这说明,此时,蓝光幼苗胚乳储藏蛋白质的水解活动以及 Glu 和 Gln 的合成活动最活跃 。这与此时蓝光幼苗有较高的谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合酶 (GOGAT)活性水平的变化(见另文)是一致的。而相比之下,此时红光处理的幼苗各种氨基酸含量都远远低于蓝光和白光处理的幼苗。这可能是由于此时红光幼苗胚乳储藏物质的降解活动不如蓝光幼苗的强烈。

(2)第 7 d,各种光质处理的幼苗的 Asp 都比第 5 d 略有减少,Glu 变化不大,而 2 种酰胺都有较大增加。说明此时幼苗的储藏物质降解所产生的氨基酸的速度要大于新器官所需蛋白质的合成速度。与白光、蓝光处理相比,红光处理的各种氨基酸的上升幅度都是最大的,Gln 甚至超过白光处理的幼苗 11%。这说明,红光处理的幼苗的储藏蛋白水解和 Gln 合成活动是在第 7 d 才进入旺盛阶段。

表 1 光质对水稻幼苗游离氨基酸含量的影响(μmol/g·FW)

Table 1 Effect of light qualities on the content of free amino acids of rice seedlings

Age	Light	Asp (%)	Asn (%)	Glu (%)	Gln (%)
5d	WL	0.335(100.0)	1.52(100.0)	0.526(100.0)	0.392(100.0)
	BL	0.358(106.9)	1.509(99.3)	0.621(118.1)	0.513(130.9)
	RL	0.180(53.7)	0.719(47.3)	0.405 (77.0)	0.271(67.1)
7d	WL	0.250(100.0)	2.668(100.0)	0.565(100.0)	0.812(100.0)
	BL	0.260(104.0)	2.399(89.9)	0.579(102.5)	0.944(116.3)
	RL	0.190(76.0)	2.135(80.0)	0.522(92.4)	0.902(111.1)
10d	WL	0.426(100.0)	4.063(100.0)	0.693(100.0)	0.503(100.0)
	BL	0.404(94.8)	3.254(80.0)	0.770(111.1)	0.636(126.4)
	RL	0.203(47.7)	4.094(100.8)	0.597(86.1)	0.602(119.7)
17d	WL	0.350(100.0)	4.071(100.0)	0.696(100.0)	0.254(100.0)
	BL	0.324(92.6)	3.463(85.1)	0.682(98.0)	0.247(97.2)
	RL	0.259(74.0)	4.461(109.6)	0.631(90.7)	0.360(141.7)

(3)第 10 ~ 17 d,各种光质处理的幼苗的 Gln 都显著减少,而 Asn 却有所增加。从相对量来看,蓝光处理的幼苗 Asn 比第 7 d 增加不多,比同期的白光和红光处理的幼苗少约 20% 。红光幼苗的 Asn 增加最为迅速,第 10 d 几乎是第 7 d 的 3 倍,10 d 以后仍继续增加;Gln 的相对含量也是远远高于白光或蓝光的处理。这可能说明蓝光处理的幼苗在前几天活跃合成 Glu 和 Gln 后,迅速转化为其它氨基酸并进一步合成了蛋白质,因此储备形式的氨基酸 (Asn)不多。而红光幼苗则可能是由于它的氨基酸没有及时组合到蛋白质中

去，故先以稳定的酰胺形式（Asn）储存较多。

3　讨论

综合可溶性蛋白、总氮、蛋白氮、非蛋白氮以及 Asp、Asn、Glu、Gln 4 种游离氨基酸等多项指标来看，可知，蓝光对幼苗蛋白质积累的促进作用在水稻幼苗的生长初期（第 5 ~ 7 d 或 5 ~ 10 d）比较明显；与之相呼应的是，这时蓝光处理的幼苗游离氨基酸含量也远远高于白光和红光的处理；蛋白氮水平与非蛋白氮水平都高。由于蓝光的这种促进效应并不能长期维持，到第 17 d，蓝光处理的幼苗可溶性蛋白含量、蛋白氮含量、以及游离氨基酸含量都低于白光对照处理，因此，推测蓝光对幼苗生长初期蛋白质含量的提高，除了能促进植物的初级氮同化（见另文）外，还影响着幼苗胚乳储藏物质的降解速度。红光处理的幼苗其蛋白含量始终低于白光和蓝光的处理；从氨基酸含量的变化动态可推测，红光处理的幼苗胚乳降解高峰要来得晚一些，并且，游离氨基酸大多以 Asn 形式储存，可能组合到蛋白质上去的要少一些。另外，叶片可溶性蛋白含量在第 17 d 锐减，而蛋白氮的含量此时却还略有上升；造成这两项指标不吻合的原因，可能是：其一，测定时所用的材料部位不同。可溶性蛋白的测定是以鲜叶片为材料，而蛋白氮测定却是以烘干的整株植株为材料。其二，蛋白氮除了可溶性蛋白外还包括所有的组织结构的蛋白质。

参　考　文　献

李韶山，潘瑞炽，1995. 蓝光对水稻幼苗碳水化合物和蛋白质代谢的调节. 植物生理学报，**21**(1)：22 ~ 28

牟得海，1997. OPA 柱前衍生反相高效液相法测定氨基酸含量. 色谱，**15**(3)：319

张龙翔，张庭芳，李令媛，1985. 生化实验方法和技术. 第 1 版，北京：高等教育出版社，12

倪晋山，1985. 水稻的溶液培养. 见：上海植物生理学会编，植物生理学实验手册. 上海：上海科学技术出版社，63

王晓明，王小菁，潘瑞炽，1999. 蓝光对绿豆下胚轴愈伤组织形成和生长过程中蛋白质代谢的影响. 植物生理学报，**25**(4)：321 ~ 326

潘瑞炽，董愚得，1995. 植物生理学，第 3 版，北京：高等教育出版社，64

Bradford M M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram qualities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biol Chem*, **72**: 248

Kowallik W, 1982. Blue light effects on respiration. *Ann Rev Plant Physiol*, **33**:51

Kowallik W, 1987. Blue light effects on carbohydrate and protein metabolism. In Senger H ed. Blue light Responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms, vol. 1. Boca Raton Florida: CRC Press, 7

Voskresenskaya N P, 1972. Blue light and carbon metabolism. *Ann Rev Plant Physiol*, **23**: 219

欢迎订阅《林业科学》

《林业科学》是首届国家期刊奖获奖期刊，是中国林学会主办的、代表中国林业科学最高水平的学术刊物，创刊于 1955 年。主要刊登林业领域的最新科学研究成果，反映国家林业建设重点和热点，促进林业科技、教育、生产发展及国内外学术交流。内容包括森林培育、森林生态、林木遗传育种、森林保护、森林经理、野生动物保持与利用、园林植物与观赏园艺、经济林、水土保持与荒漠化治理、林业可持续发展、森林工程、木材科学与技术、林产化学加工工程、林业经济及林业宏观决策研究等方面，以学术论文、研究报告、综合评述为主，还有学术问题讨论、研究简报、科技应用、科技动态、新书评介等栏目。

作为我国创办最早的基础性、高科技林业科技重点核心期刊，《林业科学》在国内外享有很高的声誉，多年来一直受到广大读者的重视和欢迎。1999 年起，《林业科学》改为大 16 开本（210mm × 285mm），每期 148 页，定价 17.5 元，全年 105 元。

本刊邮发代号 82-6，全国各地邮局均可订阅。国外总发行为中国国际图书贸易总公司（北京 399 信箱），国外邮发代号 BM44。如有需要近年过刊的读者可与本编辑部联系购买。《林业科学》编辑部地址：北京万寿山后中国林学会　邮编：100091。电话：(010)62889820　E-mail：linykx@csf.forestry.ac.cn