

油桐属与石栗属叶绿体的核酸、蛋白质 及超微结构的初步研究^{*}

苏梦云 周国璋

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

关键词 油桐属; 石栗属; 叶绿体超微结构; 核酸; 蛋白质

叶绿体超微结构是叶绿体形态和功能的重要内容之一。叶绿体除在光合作用中具有重要的功能外, 在高等植物细胞质遗传中, 作为细胞器也具有重要的作用。据估计, 叶绿体DNA的信息量足以编码分子量为40 000道尔顿的多肽约150—300个^[1]。不同种的叶绿体蛋白质存在差异^[2]。不同品种的叶绿体显微结构也存在明显差异^[4]。前文^[6]已发现油桐属和石栗属在叶片的核酸、蛋白质以及叶绿素含量上存在明显差异。本文试图对该两属的叶绿体超微结构及核酸和蛋白质含量进行比较研究, 以提供进一步依据。

一、材料与方 法

试验材料为培养在亚热带林业研究所温室内一年生千年桐*Vernicia montana* Lour、三年桐*Vernicia fordii* (Hemsl.) Airy Shaw及石栗*Aleurites moluccana* (L.) Willd. 苗。温室温度为25℃, 光照强度为2 500lx。取苗顶以下第4片和第5片成熟叶片作为试验分析材料。

叶绿体制备 按刘祚昌、罗会馨方法^[2]。从所取叶片上剪去主叶脉和叶基部的腺体, 称10g, 并加25ml缓冲液(50mmol/L Tris-HCl、pH8.4、0.33mol/L山梨醇、1mmol/L MgCl₂、2mmol/L EDTA、4mmol/L巯基乙醇、2%(W/V)聚乙烯吡咯烷酮)。在组织捣碎机中先中速匀浆10s, 再高速匀浆2次, 每次10s, 8层纱布过滤。滤液用200×g离心5min, 取上清液再用1 500×g离心15min, 弃去上清液, 将沉淀悬浮在50mmol/L的Tris-HCl缓冲液中(pH8.4、1mmol/L MgCl₂、2mmol/L EDTA、0.33mol/L山梨醇), 并保存于冰箱中备用。

RNA含量测定 吸取一定体积的叶绿体悬浮液, 离心弃去上清液, 基本按Bonner & Zeevart^[3]的方法, 将离心沉淀物先用丙酮匀浆、提取、离心, 弃去丙酮提取液, 再用95%乙醇于沸水浴提取2次, 以除去醇溶性物质。残留物在冰浴中用5%的三氯醋酸提取2次, 以除去酸溶性物质。再用乙醇: 乙醚(2:1)提取3次, 以除去脂类物质。残留物在37℃用0.3N氢氧化钾水解16h, 离心除去沉淀物。上清液用高氯酸酸化至pH3, 经离心, 上清

本文于1988年2月3日收到。

^{*} 本所油桐组提供试验材料, 浙江省测试所徐颢、韦明芳同志协助电镜工作, 谨此一并致谢。

液定容后,用751型分光光度计于260 nm和340 nm 波长下测定光密度值,并计算 RNA 含量。

DNA 含量测定 上述含有 DNA 的高氯酸钾沉淀,在 0℃下,用 5%三氯醋酸洗涤 2 次,然后分别用乙醇和乙醇:乙醚(2:1)洗去三氯醋酸,加入 0.5 N 高氯酸后,在 90℃下保温 10 min,离心,上清液定容后,用 751 型分光光度计于 268 nm 和 340 nm 波长下测定光密度值,并计算 DNA 的含量。

蛋白质含量测定 吸取一定体积的叶绿体悬浮液,离心,弃去上清液,脱色后加入 1 N 氢氧化钠,于 90℃提取 1 h,离心,收集提取液,洗涤 3 次,离心,合并提取液,调 pH 至中性,定容后按 Lowry 方法^[10]测定蛋白质含量。

叶绿体超微切片 取生长在试验温室中一年生苗展开的顶叶以下第 4 片成熟叶片,切取叶片中部叶肉部分长 5 mm、宽 1 mm 的样块,投入 2.5%戊二醛溶液中,进行真空渗入固定。然后用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 洗涤,再放入 2%锇酸中,并于真空干燥器中抽气固定。经磷酸缓冲液冲洗后,按常规方法用不同浓度的乙醇脱水,环氧树脂包埋,在超薄切片机上用玻璃刀切片。切片用 4%醋酸双氧铀和柠檬酸铅复染,用电子透射显微镜观察,并照相。

二、实验结果

(一) 油桐属与石栗属叶绿体超微结构的比较

在油桐属与石栗属叶片的海绵组织细胞内,液泡较大,置于细胞的中央,细胞质和各种细胞器都被挤到紧贴细胞壁处,发达的叶绿体沿细胞壁分布。叶绿体具有复杂的膜系统,基质内含有大型的淀粉颗粒。在供试两属的三种中,叶绿体均呈卵圆形,但在叶绿体的直径和厚度上,两属存在差异(表 1,图版 I-1-3)。油桐属叶绿体直径要比石栗属小,而厚度则要比石栗属大。从表 1 和图版 I-4-6 还可以看出,石栗属叶绿体的片层较多,亲锇颗粒较少,而油桐属两个种的叶绿体片层比较少,亲锇颗粒比较多。在叶片所含的叶绿体数上,供试的三个种是不同的,但属间并不表现差异。

表 1 油桐属与石栗属叶绿体超微结构比较

材	料	叶绿体数量 (mg/g 鲜重)	叶绿体直径 (μm)	叶绿体厚度 (μm)	基质片层	亲锇颗粒含量	基质区电子 透 明 度
油桐属	三年桐	59.11	约 4.3	约 1.9	少	较 多	较 大
	千年桐	116.28	约 4.7	约 1.9	少	较 多	较 大
石栗属	石 栗	98.10	约 5.0	约 1.6	较 多	少	小

(二) 油桐属与石栗属叶绿体核酸和蛋白质含量的比较

油桐属与石栗属叶绿体核酸和蛋白质含量如表 2,在供试两属的三种间,蛋白质含量上存在一定的差异,但属间不表现明显差异。在 DNA 和 RNA 含量上,油桐属两个种的叶绿体 DNA 和 RNA 含量要高于石栗属的石栗,而且 RNA/DNA 的比率也明显高于石栗属。

表2 油桐属与石栗属叶绿体核酸和蛋白质含量比较

材 料		蛋白质含量 (mg/g鲜重)	DNA含量 (μ g/g鲜重)	RNA含量 (μ g/g鲜重)	RNA/DNA
油桐属	三年桐	7.11	2.41	67.77	28.12
	千年桐	17.15	1.34	32.62	24.31
石栗属	石栗	12.74	0.52	6.83	13.13

三、讨 论

研究表明,油桐属与石栗属叶绿体的超微结构存在着差异:前者叶绿体较厚,片层较少,基质区的电子透明度大,亲银颗粒也较多;而后者叶绿体较薄,略长,片层较多,基质区的电子透明度较小,亲银颗粒较少。在生物化学物质的含量上,油桐属的DNA和RNA含量及RNA/DNA的比率上明显高于石栗属。这表明,该两属在解剖化学方面也存在差异,可为H. K. Airy Shaw^[6]将油桐属与石栗属分开建立两个属提供新的证据。

参 考 文 献

- [1] 王劲风等, 1985, 油桐属种分类及其品种类型鉴别方法的探讨, 中国油桐科技论文选, 118。
- [2] 刘作昌、罗会馨, 1983, 高粱离体叶绿体蛋白质合成的研究, 遗传学报, 10(4): 268—273。
- [3] 吴翰, 1985, 油桐属与石栗属叶解剖和花粉形态的比较观察, 植物分类学报, 23(3): 188—191。
- [4] 严学成, 1980, 不同品种茶的叶绿体超微结构的初步研究, 植物学报, 22(4): 397—398。
- [5] 苏梦云等, 1988, 油桐属与石栗属叶片核酸和蛋白质的比较研究, 林业科学研究, 1(2): 213—216。
- [6] Airy Shaw, H. K., 1966, Notes on Malaysian and other Asiatic Euphorbiaceae, Kew Bull., 26(3), 393—394.
- [7] Bedbrook, J. R. et al., 1979, The structure of chloroplast DNA, Ann. Rev. Plant Physiol., 30, 593—620.
- [8] Bonner, J. et al., 1962, Ribonucleic acid synthesis in the bud on essential component of floral induction in Xanthium, Plant physiol., 37, 43—47.
- [9] Loureiro J., 1790, Flora Cochinchinensis 2:586.
- [10] Lowry, O. H. et al., 1951, Protein measurement with the Folin phenol reagent, Jour. Biol. Chem., 193, 265—275.

**A PRELIMINARY STUDY ON CHLOROPLAST NUCLEIC ACID,
PROTEIN AND ULTRASTRUCTURE OF *VERNICIA*
LOUR. AND *ALEURITES* J. R. ET FORST**

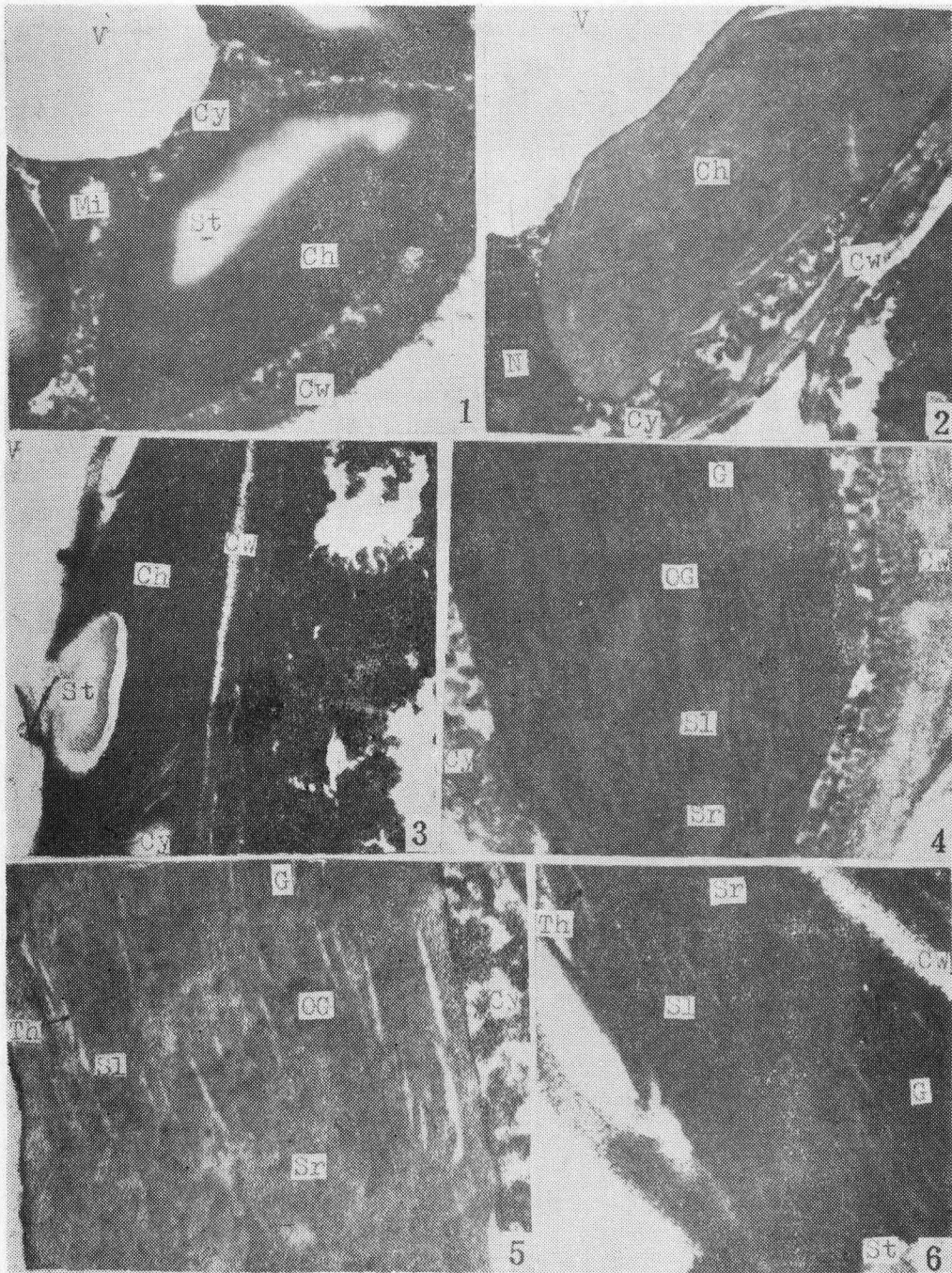
Su Mengyun Zhou Guozhang

(*The Research Institute of Subtropical Forestry CAF*)

Abstract

This paper deals with the contents of DNA, RNA and protein of chloroplast and its ultrastructure for two species of *Vernicia* and one species of *Aleurites*. Chloroplasts of two genera are in shape of an egg, and in comparison with that of *Aleurites*, chloroplast of *Vernicia* is short and thick. Stroma lamella of chloroplast of the former genus is less than that of the latter one. There are many osmiophilic globuli in chloroplast of the former genus but osmiophilic globuli of the latter genus are not so abundant as the former one. There is no difference on content of chloroplast protein between *Vernicia* and *Aleurites*. But chloroplast DNA and RNA content of the former and their RNA/DNA ratio are higher than those of the latter. *Vernicia* Lour. have not been accepted for a long time, but these characters of chloroplast ultrastructure and results of biochemical analysis show that there is obvious difference between *Vernicia* and *Aleurites*, and recent separation of the two genera by Airy Shaw is reasonable.

Key words: *Vernicia*; *Aleurites*; chloroplast ultrastructure; nucleic acid; protein



油桐属和石栗属叶绿体超薄切片。1. 三年桐, 17 000×; 2. 千年桐, 17 000×; 3. 石栗, 17 000×; 4. 三年桐, 40 000×; 5. 千年桐, 40 000×; b. 石栗, 40 000×。

图中：Cy—细胞质；Cw—细胞壁；N—细胞核；V—液泡；Ch—叶绿体；Mi—线粒体；St—淀粉粒；G—质粒；Sl—基质片层；Th—类囊体；Sr—基质；OG—亲铁颗粒。