紫菜两个光系统间激发能分配研究 对光合进化的启示

潘洁^{①*} 施定基^② 陈建新^① 彭国宏^③ 曾呈奎^③ 张启元^{①**}

(^①中国科学院化学研究所, 分子动态与稳态结构国家重点实验室, 北京 100080; ^②中国科学院植物研究所, 光合作用研究中心, 北京 100093; ^③中国科学院海洋研究所, 实验海洋生物学开放实验室, 青岛 266071. * 现地址: 中国科学院物理研究所, 北京 100080. ** 联系人, Email: zhangqy@infoc3.icas.ac.cn)

摘要 选择两个不同发育阶段(孢子体和配子体)的条斑紫菜作为研究对象, 对过多激发能在两个光系统间的分配进行了比较研究. 通过 77 K 低温荧光光谱发现, 在配子体阶段, PS II 受到的过多激发能够传递给 PS I; 而在孢子体阶段, PS II 受到的过多激发能没有传递给 PS I. DCMU 对前者激发能分配影响较大, 对后者没有明显的影响. 这说明配子体阶段过多激发能够在两个光系统之间协调分配; 而在孢子体阶段, 这种协调关系不明显. 由于个体发育反映生物的进化历程, 实验结果说明光合生物的两个光系统在进化过程中存在彼此协调关系的进化规律. 这一推论也支持了有关两个光系统在形成过程中独立进化的假说.

关键词 条斑紫菜 光系统 激发能的分配 个体发育 光合进化

光系统是光合作用实现光能转换的最重要场所. 进化程度不同的光合生物的光系统会有差异. 在藻类和高等植物中存在光系统 II (简称 PS II) 和光系统 I (简称 PS I) 两个光系统, 而在更低等的光合细菌中仅有一个光系统. 一种假说认为^[1], 光合生物在其光合作用的进化历程中, PS II 和 PS I 分别是由类似于紫色光合细菌和绿硫光合细菌的单一光系统进化而来, 当它们结合到一起时导致了藻类和高等植物的诞生. 由于两种光系统在进化途径上相互独立, 当它们结合到一起后, 为保证光合生物的正常生长, 必然存在一个彼此协调关系的进化问题. 目前人们对藻类和高等植物 PS II^[2]和 PS I^[3]的结构与功能以及光系统如何由一个进化到两个进行了大量的研究^[1], 但很少有人去研究两个光系统协调关系的进化. 光系统吸收的光能 (或称为激发能) 在两个光系统之间的均衡分配, 有利于得到最大的光能转化效率^[4]. 研究两个光系统之间的过多激发能分配的进化规律有可能会揭示两个光系统之间有关协调关系的进化规律.

条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)是一种大型海洋红藻, 具有孢子体和配子体的异型世代交替生活史, 它们在形态和生长环境上各不相同, 但都能进行光合作用. 在自然状态下, 孢子体生长在海底贝壳里, 而配子体一般漂浮在海面上. 这与光合生物生命进化过程中生长环境的变迁相一致. 因此我们认为选择条斑紫菜孢子体和配子体进行过多激发能分配机制的比较研究有可能会对 PS II 和 PS I 之间协调关系的进化提供有益的线索.

1 材料与方法

(i) 条斑紫菜的孢子体和配子体材料由中国科学院海洋研究所提供. 培养方法参照文献[5].

(ii) 样品照光处理. 光诱导状态 1(对应于 PS I 被过多激发)和状态 2(对应于 PS II 被过多激发)的获得参考文献[6]. 光源为卤钨灯, 激发 PS II 用绿光(557 ± 5) nm, 强度为 $8.5 \sim 85.0 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. 激发 PS I 用蓝光(425 ± 5) nm 或远红光(728 ± 5) nm, 强度分别为 $8.0 \sim 80.0$ 和

$0.5\sim 2.5\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. 用中性滤光片改变光强. 经暗适应 1 h 后的孢子体和配子体完整细胞样品, 用上述不同波长的光照射处理后立即冻入液氮. 配子体照光诱导时间为 5 min, 孢子体为 10 min.

(iii) 仪器测定. 低温(77 K)荧光光谱在日立 F-3000 型荧光分光光度计上测定, 自编程序计算机连机控制采集光谱数据. 皮秒时间分辨荧光衰减测定参照文献[7].

2 结果与讨论

2.1 条斑紫菜孢子体和配子体激发能分配两种状态的特征比较

红藻和蓝藻的 PS II 中含有叶绿素 a 和藻胆素(藻胆蛋白中的生色团, 其吸收在 500~650 nm)作为捕光色素, 前者主要存在于 PS II 的内周天线(CP43 和 CP47)中, 而藻胆素存在于 PS II 的外周天线系统(藻胆体)中. 藻胆素捕获的光能通过内周天线中的叶绿素 a 传递给 PS II 反应中心. PS I 的捕光色素主要是叶绿素 a(蓝区最大吸收约为 435 nm, 红区吸收在 PS I 中可大于 690 nm). 因此, 绿光(557 ± 5) nm 照射将主要是由藻胆素吸收, 因而主要选择性地激发 PS II; 同理, 蓝光(425 ± 5) nm 或远红光(728 ± 5) nm 则可被叶绿素 a 吸收, 激发 PS I. 当 PS II 或 PS I 被选择性地过分激发时, 其结构会发生相应的变化来调节激发能在两个光系统中的分配, 以保持最大光能转化效率^[4]. 这种激发能在 PS II 和 PS I 之间的再分配调节, 可通过液氮 77 K 温度下两个光系统中叶绿素 a 的荧光强度变化来监测^[8]. 激发藻胆素(如激发波长为 540 nm)测得的红藻或蓝藻的低温(77 K)荧光发射光谱主要有 5 个峰: 685 和 695 nm 峰分别为 PS II 内周天线 CP43 和 CP47 中叶绿素 a 的荧光峰; 727 nm 荧光峰属于 PS I 中叶绿素 a 的荧光发射; 642 和 660 nm 荧光峰为藻胆蛋白中藻胆素的荧光发射^[9]. PS II 和 PS I 荧光峰的峰面积比反映了激发能在两个光系统之间分配的比例^[9].

图 1 是条斑紫菜配子体和孢子体分别处于选择性过分激发 PS I 或 PS II 状态(状态 1 或 2)下的低温(77 K)荧光光谱. 比较配子体中, PS I 受过分激发时(状态 1, 图 1(a)实线所示)和 PS II 受过分激发时(状态 2, 图 1(a)虚线所示)的谱图特征可发现, 前者 PS I 的荧光发射(F727)强度低于后者; PS II 峰(F685 和 F696)则相反, 实线所示 PS I 受过分激发时, 测得的 PS II 荧光峰的强度较虚线所示 PS II 受过分激发时要大. 两种情况下, F696/F727 比值由 0.81 变为 0.51. 这表明生物材料对激发能在两个光系统之间的分配作出了调节, PS I 受到的激发过多时, 此时

图 1 条斑紫菜配子体(a)和孢子体(b)处于 PS I 或 PS II 选择性过多激发状态(状态 1 和 2)下的低温(77 K)荧光发射光谱

谱图以 660 nm 峰归一化. 激发 PS II 用绿光(557 ± 5) nm, 状态 2); 激发 PS I 用远红光(728 ± 5) nm, 状态 1). 荧光测定激发波长为 540 nm

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2000-45-12-1276>

的调节使 PS II 可以获得更多的激发能, 表现为 PS II 的荧光峰强度增大; 而 PS II 受到的激发过多时, 则有利于 PS I 获得更多的激发能, 表现为 PS I 荧光峰升起. 类似地, 对孢子体中 PS I 和 PS II 分别被过分激发的情况进行比较, 但与配子体不同的是, PS II 被过分激发后(状态 2, 图 1(b)虚线所示), 虽然测得的 PS II 荧光强度也低于 PS I 受激发时(状态 1, 图 1(b)实线所示)的强度, 即 PS II 荧光降低, 但两种情况下 PS I 的荧光发射强度基本一致, 表明孢子体 PS II 受到的过多的激发能虽然可以被转移, 但并不是转移给 PS I (因为此时 PS I 获得激发能的能力并未增加, 否则 PS I 荧光强度应该增大).

对两种选择性过分激发状态(状态 1 和 2)下 PS II 和 PS I 的荧光进行皮秒时间分辨荧光衰减测定发现, PS II 受过分激发时, 配子体中, PS II 荧光寿命下降, PS I 荧光寿命增加; 孢子体中, PS II 荧光寿命也下降, 但 PS I 寿命基本不变(结果另文报道). 此变化规律与稳态荧光光谱数据是相符的. 这就显示配子体中可能存在 PS II 向 PS I 的能量传递^[10]来调节激发能在两个光系统之间的分配; 这种能量传递的调控机制在孢子体中则不明显存在, PS II 过多的激发能可能是通过 PS II 自身的某种能量猝灭途径耗散了.

2.2 电子传递抑制剂对孢子体和配子体激发能分配的影响

用人们所熟悉的光合电子传递抑制剂 N-(3,4-二氯苯基)-N', N'-二甲基脒(简称 DCMU)对样品进行处理, 然后测其低温(77 K)荧光光谱. DCMU 的作用是取代电子传递链中 Q_B 的位置, 阻断 PS II 与 PS I 之间的电子传递^[4, 11]. 图 2 是加入 DCMU 后配子体、孢子体的低温(77 K)荧光光谱. 与生理状态下的谱图相比(即未加 DCMU, 内插图所示), 配子体的 PS II 荧光峰明显升起, 同时伴随 PS I 荧光峰下降(图 2(a)所示), 说明 PS II 向 PS I 的传能受到阻碍, 激发能滞留在 PS II; 在孢子体中, DCMU 却无此明显作用(图 2(b)所示). DCMU 可以抑制配子体中 PS II 与 PS I 之间的能量传递, 而对孢子体没有明显作用, 这进一步说明 PS II 与 PS I 之间的能量传递在孢子体中较弱或不存在.

图2 DCMU 存在下条斑紫菜配子体(a)和孢子体(b)的低温(77 K)荧光光谱
内插图为生理状态下(即未加 DCMU)相应低温(77 K)荧光光谱. DCMU 加入后照光 5 min, 浓度为 80 $\mu\text{mol/L}$.
其他测定条件如图 1

3 结论

从上述实验可知, 在条斑紫菜的配子体阶段, PS II 受到的过多激发能够传递给 PS I; 而在孢子体阶段, PS II 受到的过多激发能没有传递给 PS I, 而可能是以 PS II 自身的某种能量

猝灭机制来消耗了过多的激发能. 这说明配子体阶段过多激发能能够在两个光系统之间协调分配, 从而达到两个光系统对光能的充分利用; 在孢子体阶段, 这种协调关系不明显. 两个发育阶段的条斑紫菜两个光系统之间过多激发能不同的分配调控机制是与它们适应各自生存环境的需要相符的. 海底光强弱, 不会产生过多的激发能; 而海面光强强, 所以为了更好地适应环境, 光系统之间则需要某种更为完善的激发能调控机制.

在此之前人们已对蓝藻、红藻以及绿藻、高等植物等多种光合生物的过多激发能分配机制都进行了研究^[6,10,12], 也曾有报道对不同进化程度的绿藻(刺松藻 *Codium fragile*)和高等植物受阳离子调节的激发能分配机理进行了比较研究^[13], 但从个体发育角度进行的比较研究尚无报道, 这主要是由于一般的植物材料仅在其发育的孢子体或配子体阶段进行光合作用, 而本文所报道的条斑紫菜则在这两个发育阶段均能进行光合作用, 且生存环境迥异. 由于生物的个体发育反映生物的进化历程, 条斑紫菜两个发育阶段的光系统对过多激发能分配的调节机制的不同, 可能反映了光合生物在进化过程中两个光系统对过多激发能调控机制的不同. 在孢子体中, 两个光系统之间的过多激发能调控机制不完善, 可能反映了较原始的光合生物特性; 而在配子体中, 这一调控机制趋于完善, 这是较进化光合生物的特征. 这一结论也支持了目前有关两个光系统在形成过程中独立进化的假说^[1]. 独立进化的两个光系统结合到一起后, 为保证整个光合生物的正常生长, 并达到最大光能转化效率, 必然存在一个彼此协调关系的进化问题.

总之, 研究条斑紫菜孢子体和配子体的过多激发能的分配为放氧光合生物两个光系统的进化关系提供了较明确的证据. 我们认为对它的进一步研究将会给出更多的光合生物进化的信息, 这方面的工作正在进行中.

致谢 感谢中国科学院植物研究所光合作用研究中心张纯喜博士对本文写作和修改所给予的建设性的建议. 本工作为中国科学院院长特别资助基金、国家自然科学基金(批准号: 39890390, 29733100)和国家重点基础研究发展规划(批准号: G1998010100)资助项目.

参 考 文 献

- 1 Xiong J, Inoue K, Bauer C E. Tracking molecular evolution of photosynthesis by characterization of a major photosynthesis gene cluster from *Heliobacillus mobilis*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 14851 ~ 14856
- 2 Rhee K H, Morris E P, Zhelea D, et al. Two-dimensional structure of plant photosystem II at 8-Å resolution. Nature, 1997, 389: 522 ~ 526
- 3 Kraub N, Schubert W D, Klukas O, et al. Photosystem I at 4 Å resolution represents the first structural model of a joint photosynthetic reaction center and core antenna system. Nature Structural Biology, 1996, 3(11): 965 ~ 973
- 4 Hall D O, Rao K K. Photosynthesis. 5th ed. London: Cambridge University Press, 1994
- 5 彭国宏, 施定基, 潘洁, 等. 条斑紫菜两种藻胆体与类囊体膜体外重组的光谱分析. 科学通报, 1998, 43(10): 1061 ~ 1065
- 6 Delphin E, Duval J C, Etienne A L, et al. State transition or ΔpH-dependent quenching of photosystem II fluorescence in red algae. Biochem, 1996, 35: 9435 ~ 9445
- 7 张景民, 陈建新, 张建平, 等. 多变鱼腥藻藻红蛋白单体内的能量传递机制研究. 中国科学, 1997, 27(3): 223 ~ 228
- 8 Murata N. Control of excitation transfer in photosynthesis. Biochim Biophys Acta, 1969, 172: 242 ~ 251
- 9 Govindjee. Sixty-years since Krausky: Chlorophyll a fluorescence. Aust J Plant Physiol, 1995, 22(2): 131 ~ 160
- 10 Biggins J, Bruce D. Regulation of excitation energy transfer in organisms containing phycobilins. Photosyn Res, 1989, 20: 1 ~ 34
- 11 Stowell M H B, McPhillips T M, Rees D C, et al. Light-induced structural changes in photosynthetic reaction center: Implications for mechanism of electron-proton transfer. Science, 1997, 276: 812 ~ 816
- 12 Tan X X, Xu D Q, Shen Y K. Both spillover and light absorption cross-section changes are involved in the regulation of excitation energy distribution between the two photosystems during state transition in wheat leaf. Photosyn Res, 1998, 56: 95 ~ 102
- 13 李良璧, 高振洋, 马红, 等. 刺松藻类囊体膜 23KD 和 24KD 多肽在阳离子调节激发能分配中的作用. 中国科学, B 辑, 1992, (7): 696 ~ 702

(1999-09-15 收稿, 2000-03-30 收修改稿)