

104 5

[植物]光敏素[Phytochrome]

中山大学 付家端



中国植物生理学会全国学术讨论会

一九七九年八月 河北省保定市

(植物) 光敏素 (phytochrome)

中山大学 付家瑞

一、光敏素发现的历史过程

1. 早期的生理实验
2. 光敏素的发现

二、光敏素的理化性及其作用方式

1. 光敏素的吸收光谱与作用光谱
2. 光敏素的光化学性质
3. 光敏素的形成比例与生理效应
4. 光敏素的作用方式
5. 光敏素的存在部位与诱导的传递
6. 高能反应

三、光敏素的生物学作用

1. 在种子萌发中的作用
2. 在发芽反端中的作用
3. 一些光敏素控制的光反应
4. 光敏素作用的生态学意义

(植物) 光敏素 (phytochrome)

一、光敏素发现的历史进程

1. 早期的生理实验

在实验中人们很早便觉察到昼夜与季节对开花有更著作用。1920年, 这个向题首先由Garner和Allard 解决, 提出了光周期的理论。后来发现短日植物 (SDP) 实质上是“长夜”植物。它需要一定长度的、不间断的黑暗期才能开花。如果中断引起短日植物开花的黑暗中间, 给予一个足够强度的短暂光所中断, 就会延迟开花。

根据光化学第一定律, 光要产生效应, 必须能被吸收。换言之, 色素吸收性质将决定光谱各部分产生作用的相对效应。为了测定作用光谱, 在马里兰州 (Mary land) 贝尔茨维尔 (Beltsville) 美国农业试验站的Hendricks, Borthwick 等人 (1946), 制成大型的光谱仪, 将白芥分高或单叶的波文或分, 然后对各种强度的不同光谱对各种植物进行照射, 找出引起反应的各种光谱所需的入射光能。试验结果得知, 对苍耳与大豆 (短日植物) 开花的最大抑制作用产生在光谱的红外区 ($600-690\text{nm}$), 其界限在 700nm 左右。在 480nm 左右的黄绿光区作用最小, 在较短波段下 (近 400nm 的蓝光区), 作用便有所增强 (图1)。

另外, 在Flint和McAlister (1935, 1937) 研究光对莴苣种子萌芽的基础上, Hendricks 和Borthwick 等 (1952, 1954) 进一步观察到莴苣种子的萌芽可以被红光促进; 红光的作用可以被后来照射的远红光所抵消; 远红光的作用又可以被红光消除 (表1)。这就象一个两相的开关,

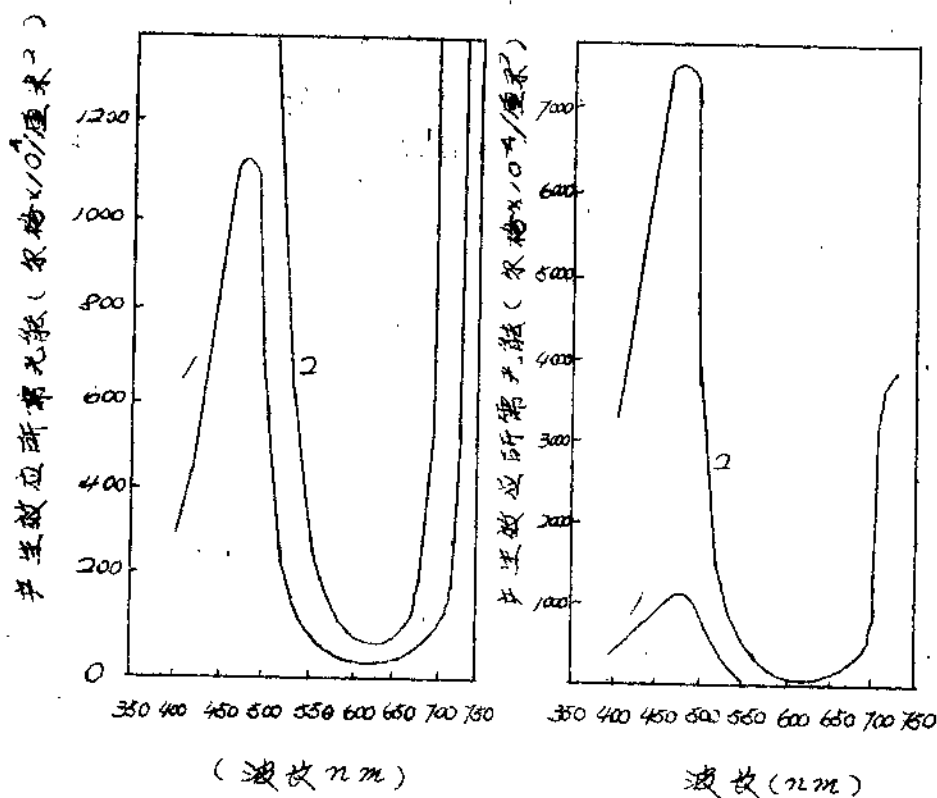


图1. 抑制大豆(310x1)及蚕豆花的
发端的作用光谱

1. 在14小时暗期中给予短暂光
阻止大豆花芽发端的光能
2. 在12小时暗期中给予短暂光
阻止蚕豆花芽发端的光能

~4~

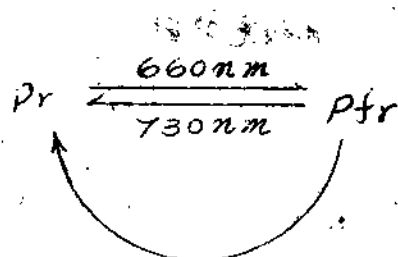
植物只对下接开关的最后一次起反应。这种系统不仅在莠苣种子萌芽中起作用，而且在开花的控制上也有效。因此，他们提出这种色素存在着两个光转换形式的见解，形式1在红光有一个吸收峰，而在远红光下吸收极少；形式2在远红光有很强的吸收峰，而在红光下吸收不强。两种形式在白光段都有一个小峰，色素的红光吸收形式叫做 P_r ，它通过吸收660nm的光量子转变到色素的远红光吸收形式叫做 P_{fr} ，这种转换是借助于730nm的光产生。这个假说，既可解释莠苣种子的萌发和被光控制的开花，也可解释一系列形态发生现象。Bortwick和Hendricks (1960)称这种色素为光敏素。

表1 顺次暴露在红光(R)和远红光(FR)后莠苣种子的萌发

照 射	萌发率(%)
无(黑暗对照)	8
R	98
R+FR	54
R+FR+R	100
R+FR+R+FR	43
R+FR+R+FR+R	99
R+FR+R+FR+R+FR	54
R+FR+R+FR+R+FR+R	98

2. 光敏素的发现

应用光谱仪可以从很多植物的活细胞中找到光敏素的存在，并观察到它的光可逆性。光敏素两种形式在不同光谱作用下发生相互转换。当 Pr 吸收了 $660nm$ 的一个光子，就转换为 Pfr ，后者是光敏素的活性形式。 Pfr 可以通过吸收一个接近 $730nm$ 的光子，或通过黑暗中进行的得很快的热过程转换为 Pr (图2)。红光吸收形式呈红色，而远红光吸收形式呈淡绿色。



可的非光化学的
对温度敏感的逆转

图2 光敏素的 Pr 和 Pfr 之间的转换示意图

在50年代后期，科学工作者试图在植物体中直接证明光敏素的存在。他们使用一种特殊的分光光度计，根据光敏素对红光及远红光的可逆吸收特性进行检查。1959年获得初步成功(Butler等)。现已证明，光敏素的纯制品是一个分子量为60,000的蛋白质(蕨素)(有人认为它的分子量为120,000)，和一个开链的四吡咯环的色素基团。有一些证据说明，光敏素在细胞中有几种不同形式存在，它们的分子量、转换的

~ 6 ~

动力学和稳定性都不相同。

二、光敏素的理化性质及其作用方式

1. 光敏素的吸收光谱与作用光谱

燕麦、小麦、黑麦、玉米芽的黄色组织是分离提取光敏素的好材料。提取的光敏素在溶液中呈现的吸收光谱与作用光谱很接近(图3)。

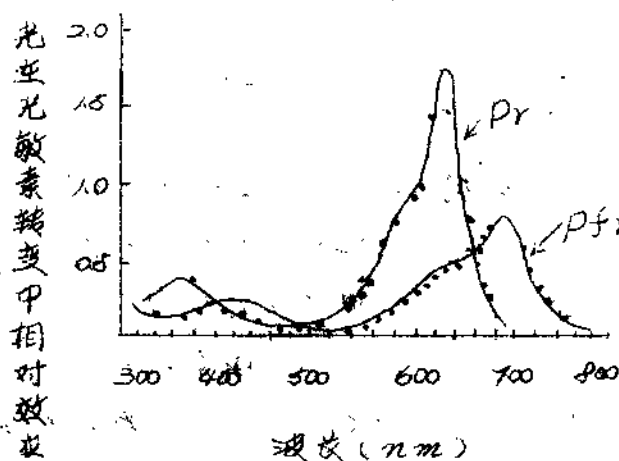
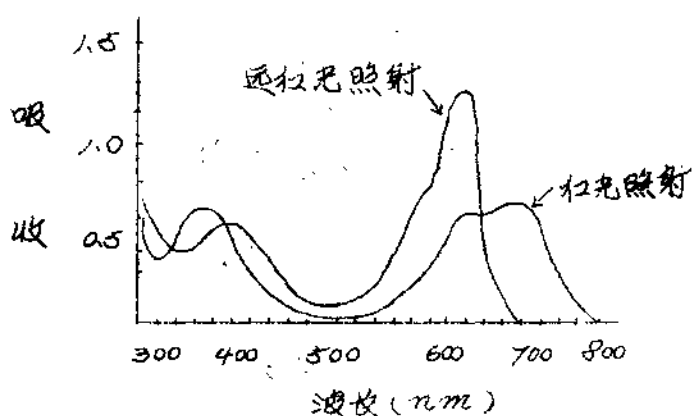


图3 光敏素溶液的吸光光谱(上)和作用光谱(下)
(引自Siegelman和Butler, 1965)

用远红光照射光敏素溶液时，所有 pfr 转换为 pr ，可用红光照射时，不是所有 pr 转换为 pfr ，因其中一部分 pfr 会便转成 pr 。红光照射光敏素的吸收光谱表示有一个 pfr 占优势的和某些 pr 的混合物。在红光平衡中，出现一个 $pr:pfr$ 特殊的比值。在红光敏素吸收光谱中，红光致变的光致变状态是 91% pfr 和 9% pr ，而当用红光照射时，光敏素转换为 pr 相当完全，只剩下 2% pfr 。(Butler 等, 1964)。

2. 光敏素的色素基团

光敏素有两个组成部分：蛋白质部分与色素基团，后者具独特的吸光特性。在不同植物中，蛋白质部分的氨基酸成分不完全相同。由于它所含的巯基与羧基氨基酸多而电荷高，对色素基团表现出十分活跃的反应性，以及通过双键与色素基团结合，目前对蛋白质与色素基团的结合方式还不甚清楚。

色素基团是由排成直线的四个吡咯环构成，与动物的胆色素结构相似，其吸收光谱与 *porphyrin*, *Smithii* 的羽藻蓝蛋白 (*Allophycocyanin*) 相似 (Linschitz 等, 1966)。光敏素的吸收光谱及光可逆性变化是连接在脱辅基蛋白上的专性色素基团的特性。光敏素的色素基团具很多互变构象，其致变型相当于 pr ，在外侧的两个吡咯环上含一个乙烯基和亚乙基团。当光敏素吸收红光后，色素基团的双键转移，使吸收红光型 (pr) 转换为吸收远红光型 (pfr)。相反，当吸收远红光后，双键的重新组合又形成吸收红光型 (图4)。色素基团紧密地连接至蛋白质上，当色素基团从 pr 转换为 pfr 时，蛋白质的结构也发生改变。

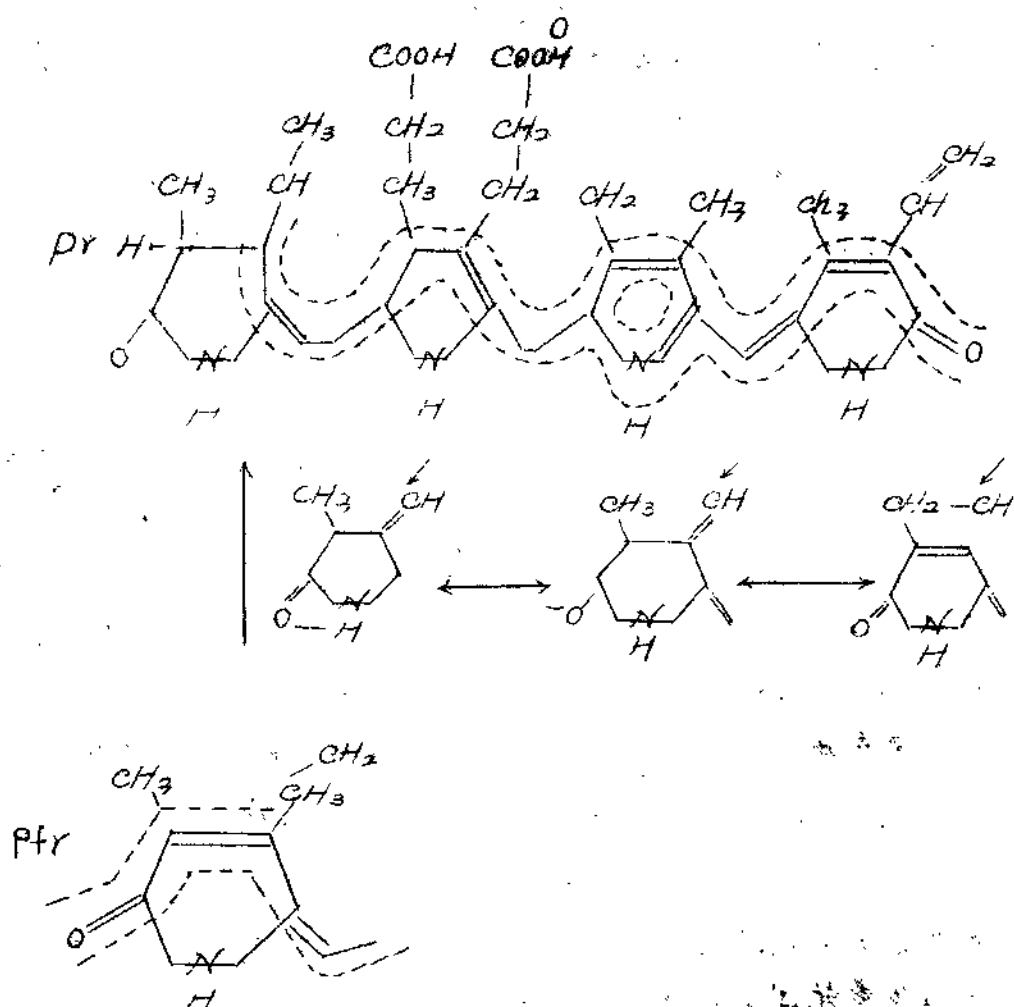


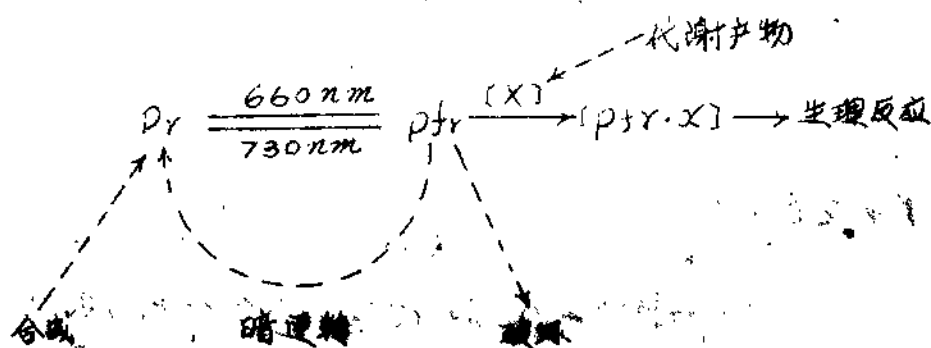
图4. 光敏素胆三烯色素基团假想的化学结构

色素基团的光敏特性是胆三烯共轭系统的电子激发的结果，存在的蛋白质是异构体结构稳定所必须的 (Lhote, 1972)。

3. 光敏素的形式比例与生理效应

光敏素的 Pfr 既可以在红光下迅速地转换为 Pr ，或者在黑暗中缓慢地转换为 Pr 。 Pfr 亦可以通过分解过程而消失。 Pfr 被认为是光敏素的生物活跃型， Pr 的含量决定于光与暗。 Pr 型与 Pfr 型的吸收光谱有些许重叠，即使在 660 和 730 nm 光谱中，两者均才吸收，因而在 Pfr 与 Pr 之间往往存在一定的比例，例如在 720 nm 下， Pfr 与 Pr 的比例约为 0.03，表示 Pfr 存在量虽极微，但确实是存在。因此可用各种波长的光线组织内产生不同水平的 Pfr 和 Pr 比例，从而获得不同的生理反应。

近年来的研究证明， Pr 转换为 Pfr 或 Pfr 转换为 Pr 比上述情况更为复杂。生物活跃型的 Pfr 与一些物质 (X) 反应生成 $Pfr \cdot X$ 复合物，引起生理作用。根据上述看法，总结为下图式：



Pfr 通过一系列增殖发利的改变和它在组织中存在的时间可能是光敏素调整反应的重要因子。(X) 可能是一种代谢物，如同 ATR、NAD 或别的分子，它们的浓度也是依赖于光暗转换过程或某些酶如膜上的 ATP 酶所引起的作用。

4. 光敏素的作用方式

当 $(P+Y\cdot X)$ 的生理活跃水平一旦在细胞、组织或器官中发生变化后，光敏素是怎样启动生理过程来控制植物的习性的呢？对此存在若干可能性。 $(P+Y\cdot X)$ 可能是酶，能催化某些关键性的代谢过程。依据 X 的化学性质以及 $P+Y/Pr$ 比例不同。

$(P+Y\cdot X)$ 复合体能催化不同的代谢反应。

H. Mohr 认为光敏素的作用方式是活化某些特定的基因，而这些基因则参与合成新型蛋白质（酶）。他们发现光敏素涉及RNA的增加和蛋白质的合成，以及组织中若干特定的酶形成。可是，基因活化机理并非特别指定的，同时在基因活化后一般需经几小时才能有蛋白合成，而激发的光敏素的元初效应却是很迅速的。要在这么短的时间内使基因活化，蛋白合成是困难的；同时还发现放线菌素D不能抑制该反应。

由光敏素控制的迅速反应的例子可举出下列几个。如含羞草，合欢(*Albizia julibrissin*)的叶子运动及在 Pr 转换为 $P+Y$ 后5分钟内，这是由于叶枕细胞的膨压变化引起。当这些细胞膨胀时，叶子张开，当膨压下降时，叶子闭合。现已证明， $P+Y$ 能改变细胞膜的透性，从而改变叶枕细胞中水分的进入与流出。设想光敏素的蛋白组成是细胞膜的一部分，随着光敏素的色素基团的激发，蛋白结构也发生改变，从而影响膜的透性。

另外的例子还有：锦葵属(*Mongcotia*)在远红光后不到10分钟，光敏素控制的质体排列便发生改变，30分钟完全显现，只有在红光照射后第一分钟，远红光才可以完全逆转红光所产生的作用。黄化禾本科叶子的尺开，日本唐半夏

(*pharbitis*) 和高凉菜属 (*Kalanchoë*) 的开花诱导大约在一分钟内发生。从这些迅速反应的事实中, 可以推论光敏素的起始作用, 不包括一分子 RNA 及蛋白质合成过程。较为合理的解释是: 光敏素位于膜中, 它的转换影响膜的透性, 而形态发生均是这个起始作用衍生出来的过程。膜透性改变的途径还不十分清楚, 可能是生物电势的局部电化学梯度的诱导作用。根据根尖电势的测定, 证明红光敏诱导少数正电荷产生, 而它可以为远红光逆转 (Jaffe, 1968)。

5. 光敏素的存在部位和诱导的传递

既然光敏素是在膜上起到改变透性的作用, 它在细胞中必然有特定的部位。使用光的微束直接照射在细胞的特定部位, 从对红光及远红光可逆的吸收变化探测出光敏素的存在。应用这种技术, 发现光敏素位于蕈菌胚基部和离离基的细胞核膜附近 (Ogleston, 1968), 蕈菌光敏素位于蕈菌基部的细胞膜上 (Haupt, 1968)。红光照射细胞膜的一小片时仅仅是最接近膜的一小片小叶体才有反应。用不同方位的偏振光, 证明光敏素在膜中有固定的排列。用不同波长的光照射, 也可以改变光敏素分子的排列。

如用红光微束照射蕈菌种子, 可以证明照射胚根尖端时, 促进萌发最有效, 因而推论在胚根中光敏素的转换是萌发的光受条件。光必须射中细胞, 才能引起生长形式的改变, 而不存在转移效应。

在合欢叶子昼夜运动的光控制中, 光刺激的接受体就是表现反应的叶细胞本身 (Koukkari 和 Hillman, 1968)。由于没有刺激的转移, 因此用局部的光刺激, 使个别小叶闭合。

而其它叶子则被张开。

光敏素转换控制的开花诱导效应，可以长距离传递，且能持续一个收获时期。GA一般能引起茎的伸长或抽苔，对某些LDP（长日植物）有诱导开花的作用。ABA则能使某些SDP（短日植物）开花。这两类植物激素都是由异戊间二烯化合物单位构成，因此有人曾推测光敏素转换控制着异戊间二烯合成的某些方面。

Bewley等(1967)证明在莴苣叶子中，红光30分钟内能诱导GA形成。GA与红光的作用(即 pfr 状态)，对萌发起增效作用。这是由于光敏素可使膜的透性增加，促使GA合成能力的加强，渗入增多，因此加强了GA的作用。

6. 高能反应

大多数的光敏素反应是以对极低光强的敏感性为特征。此外，也有一些光形态发生过程是要求强光的，这些反应称为高能反应，或称强光过程：如莴苣胚芽钩的开裂，油菜幼苗花青素形成，白芥的子叶开裂，天仙子花的控制，含羞草的小叶开裂等。它的作用光谱在700-720nm范围内有一个高峰，在光谱的兰色部分也有一个高峰(图5)。高能反应的另一特征是无光可逆性，不能用短暂红光(660nm)逆转光反应。

有些人认为高能反应是受别的因素所控制，但也有人认为高能反应是光敏素的另一种表现形式，是在强光下发生 P_1 与 Pfr 的特定比例的结果。目前对高能反应尚未充分了解，但已知它是控制生长发育的十分重要反应。

认为高能反应是光敏素的另一表现形式的解释是，常绿地用远红光照射因下了一小部分被破坏的 Pfr 形式的光敏素，

而这一类的反应要比其它光敏素的反应要求较高的光化能量，即高能反应的作用光谱可能是 Pr 和 $P^{+}r$ 之间的中间体对光的吸收。在强光下，如太阳光，从 Pr 到 $P^{+}r$ 的迅速转换中，有近30%的光敏素是中间形式，这将引致一个居间的吸收峰，这一中间体对形态发生有正的作用。

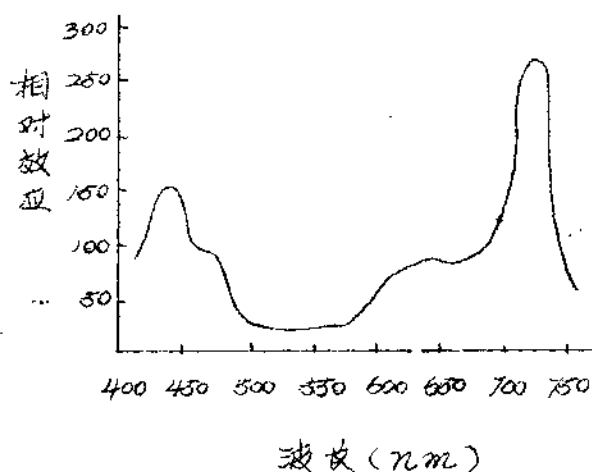


图5 芥菜幼苗高能反应的作用光谱 (Mohr, 1960)

三、光敏素的生物学作用

1. 在种子萌发中的作用

光对种子萌发的最初效应受到光敏素控制。如前所述，形成的 $(P^{+}r \cdot x)$ 诱发萌发过程。喜光种子（如莧菜，燕麦）在白光照射下迅速达到适宜的 $(P^{+}r \cdot x)$ 水平，因而能启动萌发。反之，如果得不到适宜 $P^{+}r \cdot x / Pr$ 比例，则种子仍处于休眠状态，对非忌光性种子，在它们成熟时已存在适宜的 $P^{+}r \cdot x / Pr$

~14~

比例，不需光照将 pr 转换为 $p+pr$ ，而新合成的 pr 也可在黑暗中缓慢地转换为 $p+pr$ 。

Shropshire、Klein 等发现种子成熟时，在适当的光暗照射下，光敏素可进行光转换，当种子失水时，光敏素便固定在一一定的 $pr/p+pr$ 比例。以至干燥种子吸水，光敏素水合时，如有适宜水平的 $p+pr$ 或 $p+pr \cdot X$ 存在，则能诱发种子的萌发。由于种子成熟时光照条件不同，一堆种子中往往具有 $pr/p+pr$ 的不同比例。

忌光种子不能在匀光下萌发，而需在较长时间的黑暗中催芽，使它们能获得适宜的 $p+pr$ 水平，从而启动萌发过程。可见启动这些种子萌发所需的 $p+pr$ 水平较低，因此在吸水后，必须维持种子低 $p+pr$ 水平，使之通过若干生理生化过程，诱发忌光种子萌发。

光敏素参与种子休眠与萌发是事实，但机理尚未彻底清楚。当种子发育时，光敏素是光可逆的，可以在各种光暗作用下达到不同的 $pr/p+pr$ 水平。当种子成熟失水时，细胞内及膜蛋白脱水，代谢水平下降，膜内的光敏素固定于特定的 $pr/p+pr$ 。在干燥种子中光敏素是稳定的，虽然在黑暗中两形式均可相互转换，但这种变化不是主要的，在种子吸水后，未知物 (X) 起作用，而在干燥种子中不存在或处于不活跃状态 (图6)。

各种因子，包括外界条件与内因条件，在种子休眠与萌发中，与光敏素发生相互作用。除种子吸水时光温湿的影响外，种子成熟时与贮藏中所经历的条件也必须考虑。

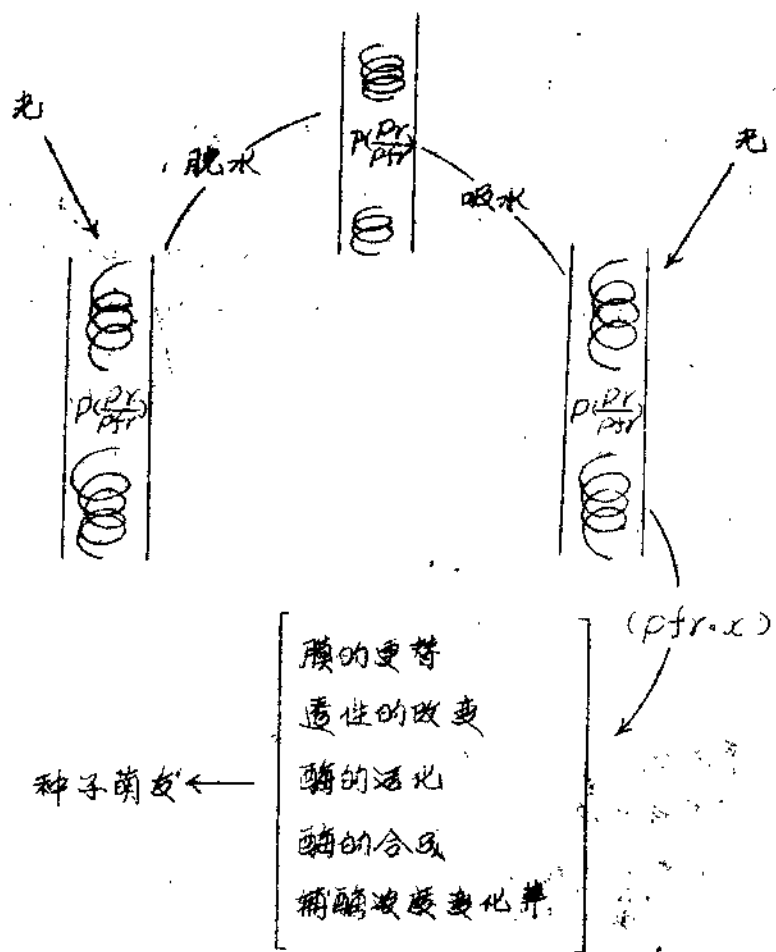


图 3 种子中光敏素发育的假想图解
(Yogge 等, 1976)

2. 在花芽尖端中的作用

光敏素在花芽尖端中所起的作用还不十分清楚。已知光敏素并非开花刺激物，但却涉及形成开花刺激物的诱导过程。

对于SDP，在光期结束时， Pfr 浓度高，所形成的 Pfr/Pr 比例足以阻止开花刺激物的合成。及至经历长夜 Pfr 转换为 Pr 。

~16~

或 pt_r 受到破坏， pt_r/pr 比例下降至一定水平，便适于诱发开花刺激物形成的一些代谢过程。如暗期为红光所间断， pr 转换为 pt_r ，使 pt_r/pr 水平处于抑制开花刺激物合成的状态。

对于LDP（长日植物），形成开花刺激物要求高的 pt_r/pr ，而这一比例可在光期结束时获得。如暗期过去，则 pt_r 转换为 pr ，或 pt_r 受到破坏，开花刺激物就不能形成。夜间的短暂光可使 pr 转换为 pt_r ，将 pt_r/pr 比例重新提高，使开花刺激物得以合成。

3. 一些光敏素控制的光反应

Noggle 等(1976)表列了一些光形态发生受光敏素控制的例子：(举一下例子)

- (1) (叶，叶柄，茎)伸长
- (2) 下胚轴钩尺开
- (3) 性别表现
- (4) 芽休眠，种子萌发
- (5) 质体形态及排列 (如 *Mougeotia*)
- (6) 根的生长，根茎形成
- (7) 叶子脱落
- (8) 偏上位
- (9) 子叶伸展
- (10) 叶尾状形成
- (11) 花芽诱导
- (12) 管胞形成
- (13) 气孔开闭