

4

作物生理讲座

细胞与酶

[日]

戸菊义次 山田 登 林 武主編

作物生理讲座

第4卷

細胞与酶

〔日〕戸菊义次 山田 登 林 武主編

第4卷执笔人

相見灵三 瓜谷郁三 旭 正

鈴木直治 青木 廉 土井弥太郎

昆野昭晨

上海科学技术出版社

內 容 提 要

日本《作物生理讲座》原书共5卷，內容闡述各种主要农作物特别是水稻的生理問題。第1卷論述发育生理；第2卷論述营养生理；第3卷論述水分生理；第4卷論述細胞生理和酶系統；第5卷論述呼吸作用和光合作用。

譯本据原书卷次分卷，陸續出版。

第4卷內容討論細胞生理和酶，共分3章：細胞、酶和細胞生理的各种問題(抗病性的生理化学、低温与細胞的行动、原生质流动和作物体的pH等)。(第1、2、3卷已經出版)

本书可供植物生理、农、林、园艺工作者，以及綜合大学生物系、农、林院校师生参考。

作物生理讲座(第4卷)

細胞・酵素

戸荊义次、山田 登、林 武主編

日本东京 朝仓书店

1961年11月初版

作物生理讲座 第4卷

細胞与酶

上海科学技术出版社出版(上海瑞金二路450号)

上海市书刊出版业营业許可証出093号

上海市印刷三厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本350×1156 1/27 印张8 8/27 排版字数215,000

1965年6月第1版 1965年6月第1次印刷

印数1-5,000

統一书号 13119·626 定价(科六) 1.30 元

目 录

第一章 细胞 (相见灵三) IV-1

1. 细胞的概念 IV-1
2. 细胞的结构和机能 IV-3
 - (1) 细胞质 IV-5
 - (2) 微粒体 IV-6
 - (3) 线粒体 IV-6
 - (4) 质体 IV-7
 - (5) 叶绿体 IV-8
 - (6) 造粉体 IV-10
 - (7) 高尔基体 IV-10
 - (8) 细胞核 IV-11
 - (9) 细胞核的生理机能 IV-12
 - (10) 细胞壁 IV-14
 - (11) 细胞壁的显微结构 IV-16
3. 细胞的化学成分及其生理意义 IV-16
 - (1) 水 IV-18
 - (2) 盐 IV-19
 - (3) 类脂 IV-19
 - (4) 原生质蛋白 IV-20
 - (5) 骨架物质 IV-23
 - (6) 液泡物质 IV-24
4. 物质对细胞的透入 IV-24
 - (1) 细胞壁的透性 IV-25
 - (2) 原生质的透性 IV-25
 - (3) 原生质膜的性质与透性 IV-26
 - (4) 水对细胞的透入 IV-29
 - (5) 离子对细胞的透入 IV-30

第二章 酶 (瓜谷郁三、旭正) IV-36

1. 酶、基质和辅酶 IV-36
 - (1) 酶促作用与基质浓度的关系 IV-37

(2) Michaelis 的理論在生理化学方面的应用	IV-43
2. 酶与抑制剂及活化剂	IV-50
(1) 酶抑制的理論和实际	IV-50
(2) 酶活化剂的理論	IV-57
(3) 抑制理論在生理化学方面的应用	IV-58
3. 酶与无机离子	IV-63
(1) 无机离子对酶促作用的影响	IV-64
(2) 具有必需的高解性无机离子的酶及其性质	IV-70
(3) 无机成分在植物組織中的浓度	IV-73
(4) 无机离子的缺乏与酶促作用	IV-74
(5) 以酶水平考察无机离子的吸收	IV-76
4. 酶促作用与 pH	IV-78
(1) pH-酶活性曲綫与最适 pH	IV-78
(2) pH 对酶活性的影响	IV-79
(3) 植物細胞质內保持一定的 pH	IV-80
5. 酶与温度	IV-81
(1) 酶促反应与温度	IV-82
(2) 生理现象与温度	IV-87
6. 酶促作用与能量理論	IV-91
(1) 化学反应中自由能的变化	IV-91
(2) 自由能的变化在生物化学变化中的应用	IV-93
(3) 放热(吸热)反应与放(吸)尔岡反应	IV-96
(4) 酶促作用与平衡	IV-97
7. 复合酶系統	IV-97
(1) 复合酶系統与反应速度	IV-98
(2) 复合酶系統与有形体	IV-99
(3) 作为复合酶系統聚集体的綫粒体	IV-99
(4) 細胞內有形体的活性	IV-102
(5) 細胞內各种复合酶系統的存在部位	IV-102
8. 酶蛋白质的合成	IV-103
(1) 酶蛋白质生物合成的机制	IV-103
(2) 限制酶的形成和分解的体内調节机构	IV-104
(3) 生理现象与酶的合成	IV-107
9. 酶促作用的控制和調节	IV-109
(1) 酶系統內的控制	IV-109

(2) 酶系統之間的共軛和控制	IV-109
(3) 某种成分的合成系統和分解系統的差异	IV-112
(4) 活体内的調节物质	IV-115
(5) 酶系統的存在部位	IV-116
10. 植物酶促反应的专一性	IV-116
11. 酶在診斷作物及其他方面的应用	IV-118

第三章 細胞生理的各种問題IV-123

I. 抗病性的生理化学研究	(鈴木直治) IV-123
1. 稻瘟病的生物化学	IV-123
(1) 緒論	IV-123
(2) 病斑型与抗病势和致病势	IV-125
(3) 病斑褐变的机制	IV-127
(4) 稻瘟病病菌所生成的有毒物质	IV-136
(5) 罹病性的生物化学	IV-143
(6) 小結	IV-153
2. 甘薯黑疤病的生物化学	IV-155
(1) 前言	IV-155
(2) 感染所引起的块根內成分的变化	IV-156
(3) 感染所引起的組織呼吸强度的增加,磷酸和氮代謝的变化	IV-160
(4) 异常代謝物质对病原菌的作用	IV-162
(5) 小結	IV-163
3. 甘薯紫羽紋病的生物化学	IV-165
(1) 病原菌的侵入方式与甘薯的抗病型	IV-165
(2) 感染組織的化学变化	IV-167
(3) 罹病組織的呼吸增加、巴斯德效应和末端氧化酶的变化	IV-169
(4) 抗坏血酸、綠原酸和番薯酮对病原菌生长的影响	IV-171
(5) 小結	IV-174
II. 低温与細胞的行动	(青木 廉) IV-177
1. 过冷	IV-177
2. 細胞的結冰	IV-178
3. 耐冻性与細胞結冰方式的关系	IV-184
4. 細胞內部的变化	IV-186
5. 結冰曲綫	IV-188
III. 原生质流动	(土井弥太郎) IV-191

1. 原生质流动研究的概况	IV-191
2. 作物的特性及活力与原生质流动	IV-193
(1) 温度与原生质流动	IV-193
(2) 呼吸作用与原生质流动	IV-196
(3) 氢离子浓度与原生质流动	IV-198
(4) 化学物质与原生质流动	IV-198
3. 原生质流动的生理作用	IV-199
(1) 养分及水分的吸收和运输与原生质流动	IV-199
(2) 养分的运输与原生质流动	IV-199
(3) 病毒的移动与原生质流动	IV-200
(4) 生殖作用与原生质流动	IV-200
(5) 通气作用与原生质流动	IV-201
(6) 植物激素与原生质流动	IV-201
IV. 作物体的 pH	(昆野昭晨) IV-202
1. 作物体 pH 的测定法	IV-202
2. 作物体的 pH	IV-203
3. 细胞 pH 的构成及其变化	IV-206
索 引	IV-213

細胞

1. 細胞的概念

自从1665年 Robert Hooke 最初发现細胞以来,細胞的概念有了許多的变化。他用扩大鏡观察木栓切片时发现的細胞不过是以細胞壁隔开的細胞外部輪廓而已。

此后, Schleiden (1838), Schwann (1839)証实,所有的生物体,不論是植物或是动物都由細胞构成。

但后来有人发现某些生物如細菌和粘菌不具有明显的細胞壁。因此, von Mohl (1846) 认为細胞的重要部分是为細胞壁所包围的細胞内容即原生质(protoplasma),从而予細胞以如下的定义,即“細胞是圍繞細胞核的原生质的有限的生命体”。Hanstein (1880)把这种意义的細胞叫做原生质体(protoplast)。

此后,关于原生质体知識的进一步发展,綫粒体系(Altman, Benda)和高尔基体(Golgi)等也被发现。这样,逐漸明确了細胞的重要部分并不是围在外部的細胞壁,而是其內部的細胞内容物即原生质。

Hertwig在其著作《細胞与組織》(The Cell and the Tissues)(1892)中指出,“要闡明生命现象必須先探索細胞內部的现象”,根据这种看法,他創立了作为研究細胞內的形态、化学和机能的学科細胞学(cytology)。这便是目前細胞生理学的出发点。自从 Robert Hooke 发现細胞以来,到此已經过了两个世紀。

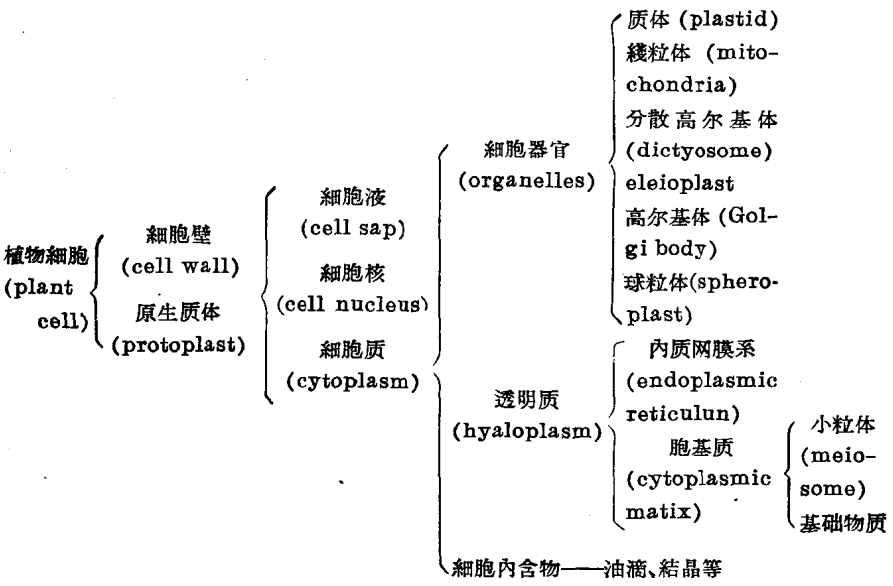
此后約半个世紀,直到1940年左右,关于原生质的化学、物理和物

理化学以及形态学方面的知识累积日益丰富，但在电子显微镜的出现以前，还不能明确原生质的显微结构，整个原生质被视为一个物理化学的相，而线粒体和微粒体存在于被视为以分散剂状态的原生质基础物质内的分散相。

1945年以来，由于电子显微镜的发展、利用离心分离法的细胞结构的分级分离、同位素的利用、酶化学的发展等，对细胞的看法发生了很大的变化。也就是说，由于电子显微镜的发展，用光学显微镜所看不到的原生质的超显微结构已被阐明，过去只能知道线粒体等是些微小颗粒，但目前已知道这些微小颗粒都具有独特的显微结构，也就是在细胞内营独立机能的细胞器官(organelle)。

目前，关于植物细胞的最新的概念是 Höfler (1960)提出来的，据他的研究，植物细胞的构成如表 1 所示。

表 1 植物细胞的构成



有人把原生质体分为具有生活能力的原生质成分 (protoplasmic components) 和没有生活能力的非原生质成分 (non-protoplasmic components)。但这种分类方法不能明确生活状态的原生质性质，因此是不大合理的。例如原生质构成成分的蛋白质和脂肪等，单独地存在时并不是生活物质，但进行活跃的代谢时，原生质本身应视为具有生活能力

的。細胞质和液泡中含有淀粉粒、油滴、草酸鈣的結晶等，这些細胞內含物显然是非原生质成分，又叫做后含物(ergastic materials)*。通常，細胞壁和液泡(vacuole)不包括在原生质內。

2. 細胞的結構和机能

探究細胞內物质分布的方法有两种：其中之一是組織化学、又称細胞化学的方法；另一种是提取构成成分在試管內进行分析的方法。前者虽能在不破坏細胞內部結構的情况下检定出細胞內的物质，但在严格的意义上检定物质是有所困难的。后者与前者相反，虽能严格地进行物质的检定，但在不破坏細胞結構的情况下提取物质是很困难的。尽管提取出来，这些物质是否能保持处在原生质中的状态是有疑問的，也就是說，所取得的結果是否能再现生活原生质中的状态是不大清楚的。因此，不宜只用某一种方法，有必要并用这两种方法以取得从各方面来看都沒有矛盾的結論。

以細胞化学的方法探索細胞內的物质分布时，應該以生活时的状态进行检定。但在生活細胞直接加試剂时，由于具有半透性的原生质膜，試剂不易透过。而且加試剂的結果引起細胞死亡时，如果死得慢，成分却容易发生变化，不能得出令人滿意的結果。因此，通常用固定剂急剧杀死細胞，以防成分的变化且使試剂易于透过。有人往往不經考虑輕率地使用过去从形态保存的角度发展起来的固定剂，但使用固定剂时有必要从生理学的角度进行研究，以免由于固定而引起成分的变化和移动。

近年来，出现了不用化学方法而用紫外綫显微鏡或紅外綫显微鏡进行光学检定的方法，这种方法是应用各种物质专一性地吸收某种波长的光的原理的(图1)。另外，还有先用化学方法使細胞內的物质进行着色反应，然后再用显微光度計法进行定量分析的方法。

利用試管內分析的方法时，首先要进行結構的純粹分离。最近，作这种試驗时常常采用下列方法，即应用細胞內結構的比重略有差异的性质，先用匀化器破坏細胞，再用离心机进行分級的方法。例如細胞核要以

* erg 为希腊語，相当于英語的 work (工作)，但此处指代謝产物或排泄物而言。此語与动物学方面常见的动质(ergastoplasm)不同，不要混淆。

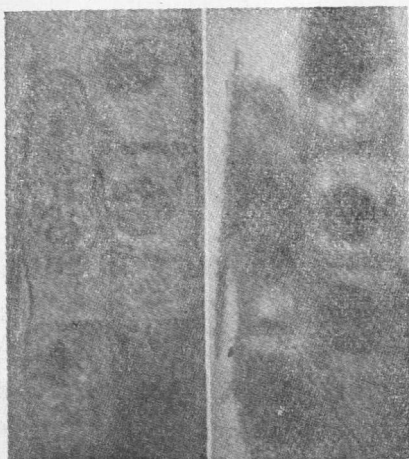


图1 用紫外綫显微镜观察的紫鴨跖草雄蕊茸毛的細胞(右)

本图表示分裂中或分裂后不久的幼嫩細胞的吸收形象(約900倍)。左为利用可見光拍摄的(原图)

1,000~2,000 重力加速度离心数分钟,綫粒体要以10,000 重力加速度离心30分钟,內质网膜系和微粒体要以100,000 重力加速度离心30分钟。所使用的介质应根据对照适当調整渗透压和 pH。由于这种措施,介质的比重发生变化时,应相应地改变离心力和离心时间。例如,綫粒体在0.25 克分子的蔗糖溶液中要以5,000~8,500 重力加速度的离心力离心10分钟,但在0.88 克分子的蔗糖溶液中要以24,000~29,000 重力加速度的离心力离心20分钟,也就是說,需要更大的离心力和时间。

用光学显微镜观察成长的細胞(图2)时可以看出,很大的液泡(vacuole)占据着細胞的大部分,細胞质层形成很薄的膜状圍繞着液泡。細胞质层最里面与細胞液接触的部位有原生质的膜叫做液泡膜(tonoplast),这种膜,細胞呈正常状态时不很显著,但呈病态时則明显可见(Strugger, 1949)。

液泡膜的相反一边即細胞质最外层也有一种膜叫做外质膜(ectoplast)。这种膜紧紧貼附于細胞壁,因此不能直接看到,但使細胞产生质壁分离时,在收縮的細胞质外面可以看到明显的境界膜。最近,电子显微镜的观察結果說明,外质膜和液泡膜由厚度为70~100Å的二层膜組成。位于外质膜和液泡膜之間的原生质体中含有一个細胞核、多数的质体、綫粒体、微粒体和高尔基体等(图3)。



图2 光学显微镜下的細胞結構

在幼嫩細胞中,原生质占細胞的大部分,細胞核也大,綫粒体、微粒体和高尔基体也多。而液泡較小,往往形成細絲状或管状,这种状态的液泡

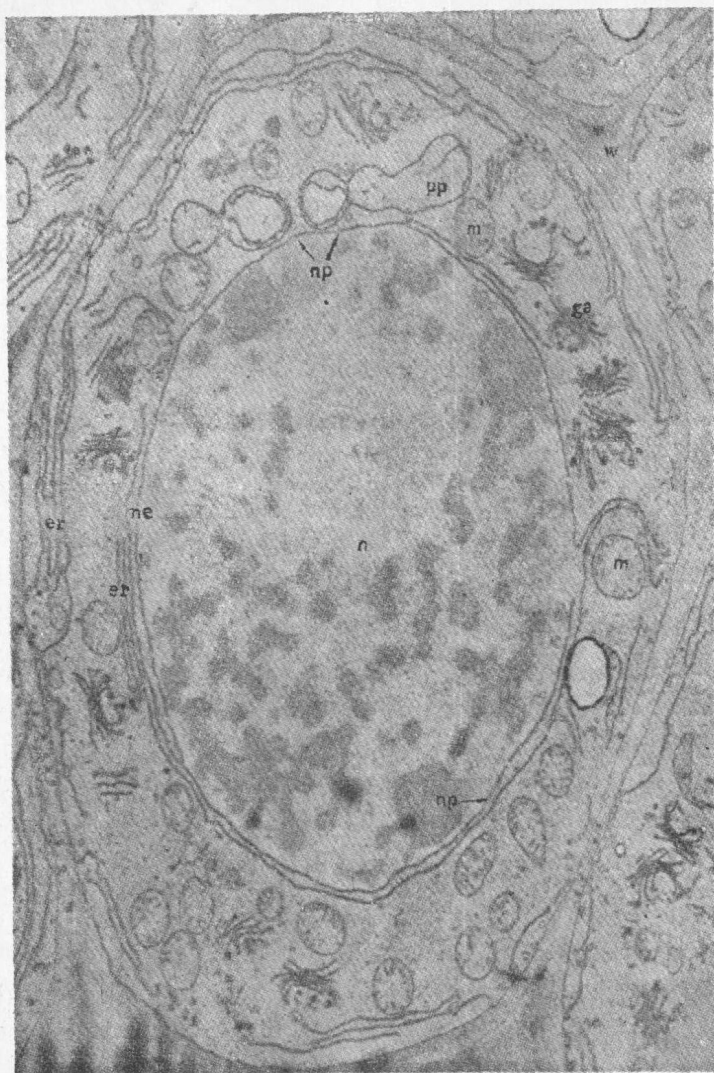


图3 电子显微镜下的植物细胞
(Whaley等,1960)

材料：玉米根的幼嫩细胞；n：细胞核；np：核膜的孔；m：线粒体；ga：高尔基体；er：内质网膜系；ne：核膜；w：细胞壁；pp：前质体

又称液泡系(vacuome)。

(1) 细胞质(cytoplasm)

用电子显微镜观察细胞质时可以看出，轻微吸收电子线的基础物质

2. 细胞的结构和机能]

[IV-5]

之中有一种好象两条綫似的网状結構，这种网状結構叫做內质网膜系(endoplasmic reticulum, 簡称为ER)(Porter, 1953)。內质网膜系的周圍附着有很多的微小顆粒(直径为 $100\sim 200\text{\AA}$)。利用离心分級法使細胞結構分級时，作为微粒体分級层可取得这种小粒和內质网的片断(Mer-cer, 1960)。微粒体(microsome)这一名詞是很早以前就存在的，微粒体是否与这种用电子显微镜观察到的微粒体相同还不大清楚。为了避免这种混乱，Höfler 倡議用电子显微镜观察的长度为 $80\sim 300\text{\AA}$ 主要是 $140\sim 150\text{\AA}$ 的微小顆粒应叫做“meiosome”(小粒体)。据这种定义，細胞质由內质网膜系、小粒体和基胞质(groundplasm)构成。在幼嫩細胞中小粒体較多，在老龄細胞中小粒体較少，而內质网膜系却較多(Lund, Vatter 和 Hanson, 1958; cf, Höfler, 1960)。

(2) 微粒体(microsome)

这里讲的微粒体系指一般意义的微粒体，并不是指 Höfler 所讲的小粒体。通常微粒体指长度 0.1 毫微米以下的原生质微小顆粒，即利用分級离心法在 0.25 克分子的蔗糖溶液中以 $100,000$ 重力加速度离心 30 分钟时沉淀的顆粒而言。这种顆粒一般含有大量的核糖核酸(RNA)(細胞內的RNA $60\sim 70\%$ 存在于微粒体中，很少存在于基胞质和內质网膜系中)。目前已弄清楚的微粒体中所含有的 10 种主要酶之中， 9 种是酯酶。从而不难設想，微粒体是具有水解作用的顆粒。細胞中的輔酶 I (CoI)——細胞色素 c 还原酶活性的大部分也含于微粒体内。根据具有放射性的氨基酸轉入微粒体蛋白质中的速度，不难設想，細胞內的蛋白质合成大部分是在微粒体内进行的。

(3) 綫粒体(mitochondria)

綫粒体是通常长度为 500 毫微米或 500 毫微米以上的小顆粒，利用分級离心法在 0.25 克分子蔗糖溶液中以 $5,000\sim 8,500$ 重力加速度离心 10 分钟即可获得，其形态不一，有的为椭圆形，有的为細长絲状等等。

用电子显微镜进行观察时可以看出，綫粒体为内外两层膜所圍繞，內膜有多数褶襞向內部突出。褶襞之間充滿着 $10\sim 15$ 毫微米的小顆粒(图 4)。

綫粒体的两层膜是由蛋白质形成的，各层膜的厚度約为 $45\text{\AA}$ ，两层膜的間隔为 $70\text{\AA}$ 。这两个蛋白质膜之間有类脂的双层。因此，能經常保持一定的間隔。

綫粒体的 30~40% (干物质%) 为蛋白质, 其余的 25~38% 为类脂, 也就是说, 蛋白质和类脂约占干物质的 70%。綫粒体内含有相当于干物质的 1% 的 RNA。

此外, 根的綫粒体含有抗坏血酸(Chayen, 1953)。馬鈴薯的綫粒体含有葡萄糖(Levitt, 1954)。此外, 綫粒体还含有鈉、鎂、鈣特别是多量的鉀。这种鉀是进行氧化磷酸化作用(oxidative phosphorylation)所不可缺少的。如果抑制氧化磷酸化作用, 则急剧地失去多量的鉀。如在介质中加以 KCl, 则很活跃的綫粒体积极吸收鉀。另外, 綫粒体含有进行有氧代谢、糖酵解作用、氧化磷酸化所需要的主要辅酶(Coenzyme)的大部分如 CoA、

FAD(腺嘌呤黄素二核甙酸, flavine adenine dinucleotide)、细胞色素 a、细胞色素 a₃、细胞色素 b、细胞色素 c、细胞色素 c₁ 等(Martin 等, 1956, 1957)。因此, 在綫粒体内有碳水化合物的有氧分解, 以进行活跃的能量代谢。綫粒体之所以对烟鲁绿表示专一的染色性, 是因为綫粒体与其他部位不同, 由于氧化酶的存在所摄取的烟鲁绿不会被还原。

(4) 质体(plastids)

质体是植物细胞特有的原生质体(protoplast), 几乎存在于所有的细胞中, 对碳水化合物代谢起重要作用。质体根据其中色素的有无和机能, 又称叶绿体(chloroplast)、白色体(leucoplast)、有色体(chromoplast)等。叶绿体含有叶绿素, 除此以外, 还含有胡萝卜素和叶黄素等。质体之中含有叶绿素以外的色素的称有色体(chromoplast), 例如番茄果实之所以呈红色, 是因为其中具有含番茄红素(lycopene)的有色体。

质体之中不含特殊色素的称白色体(leucoplast)。白色体之中含有贮藏淀粉的称造粉体(amyloplast)。除此以外, 还有生产纤维素的。

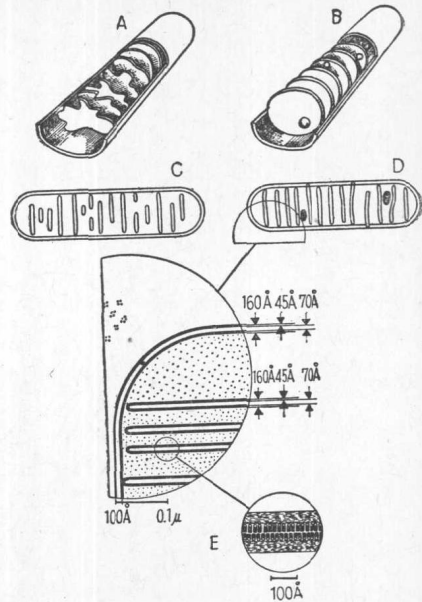


图 4 綫粒体的細微結構

A、B: 綫粒体两种类型的立体結構;
C、D: A 和 B 的剖面; E: 綫粒体的
膜結構

綫粒体和质体在光学显微鏡下都很微小,很难加以区别,但其显微化学性质和电子显微鏡下的結構显然不同。因此,两者应视为互相不能轉移而各具有专一生理机能的独立的細胞器官(相见,1960)。

(5) 叶綠体(chloroplast)

叶綠体在光学显微鏡下有时似乎全体为均质的結構,有时在基质中可看到多数的小点状結構物,这种小点状的物体称为质体基粒(grana),而基础物质則称間质(stroma)。质体基粒的大小和数量因細胞种类而异(图5),通常大小为0.5~2微米。叶綠素含于质体基粒之中。

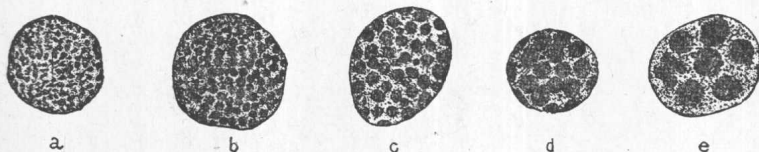


图5 各种质体基粒的大小

(a) *Plectranthus* (b) *Cabomba* (c) *Eucharis* (d) *Eranthemum*
(e) *Lithops* (Heits)

在电子显微鏡下可以看到,叶綠体的外部有膜,內部具有层状結構(lamella structure) (图6)。层状結構之間有溶胶状的粒状物质。基粒

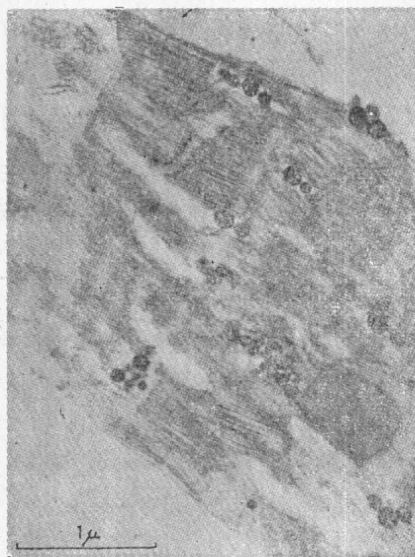


图6 电子显微鏡下的叶綠体

形成层状结构的一部分,蛋白质层和类脂层互相交替,整个地说则为平偏的圆盘状物体叠合成圆柱状(图7)。间质层状结构的膜厚度约为 $30\text{\AA}$,基粒层状结构约为 $65\text{\AA}$,厚约 2 倍。

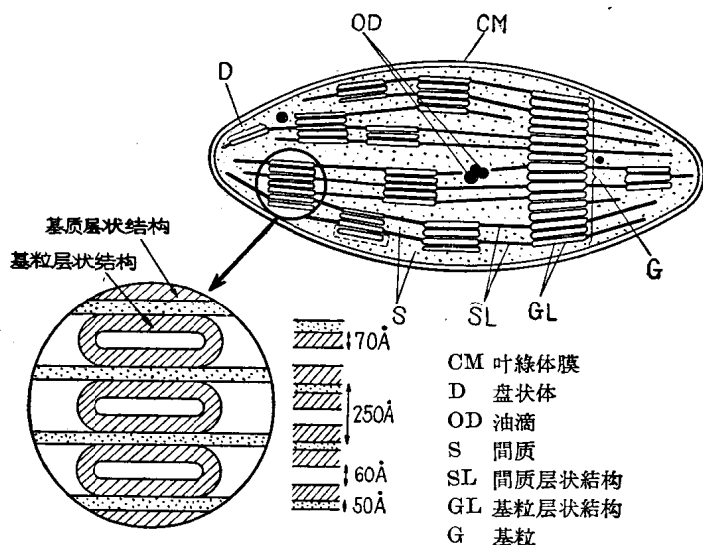


图 7 叶绿体超微结构模式图

淀粉是在层状结构之间形成的,因此被夹而成晶体状。

以菠菜为例,叶绿体的化学成分如下:

脂 肪	37.4%(重量%)
蛋白质	47.7%
灰 分	7.8%
其 他	7.1%

由此可见叶绿体的特点是富含蛋白质和脂肪。

此外,叶绿体内还含有维生素 K_1 , 虽然含量不多,但保持一定的值,即相当于叶绿素的 $1/200$ 。这种维生素 K_1 可能是光合过程中最初的还原产物,而且再次被氧化,在光合过程中起重要作用。

叶绿素的分子结构,如图 8 所示则

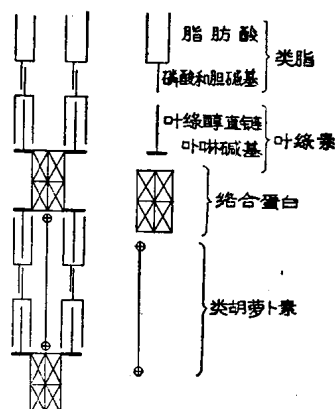


图 8 叶绿体分子排列结构的假定图 (Hubert)

为叶綠基甲叶綠酯(phytyl-methyl-chlorophyllide)。其中长鏈状的叶綠基具有强的疏水性,叶綠酯具有亲水性基。因此,在蛋白质层和类脂层互相交替的基粒结构中,叶綠基的尾部进入类脂层中,叶綠酯的头部位于蛋白质层中。

这样,叶綠体具有复杂而巧妙的結構。由于光合作用,地球上的植物每年生产几百万吨的有机物。

(6) 造粉体(amyloplast)

造粉体是无色的质体,其中有多量淀粉累积。幼嫩的造粉体在光学显微镜下只是一种白色小体,因此,与其他微小顆粒如綫粒体和微粒体等很难加以区别。于是,其間容易发生混乱,过去有人认为造粉体和綫粒体是同一物体,或互相可以轉化,甚至认为綫粒体也有多量淀粉累积。但最近,相见等(1960)利用电子显微镜明确了造粉体的显微結構,据这种研究,甘薯和水稻的造粉体外部显然有薄膜,内部結構非常简单,形成袋状,其中有淀粉累积。造粉体不具有象叶綠体那样复杂的片状結構以及象綫粒体那样固有的突起状隔壁(图9)。因此,发育完成的造粉体至少可看做

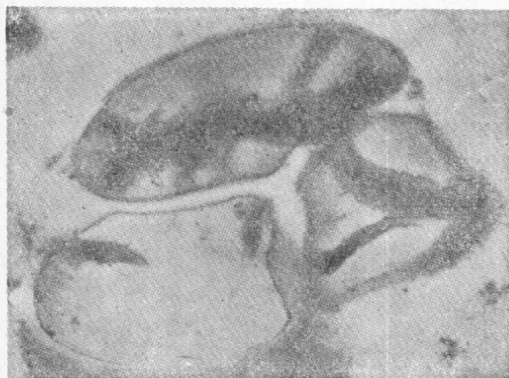


图9 电子显微镜下的甘薯造粉体
(原图)(約21,000倍)

是与叶綠体和綫粒体不同的細胞器官。

(7) 高尔基体(Golgi apparatus)

过去,一般认为高尔基体是主要存在于动物細胞的細胞内部結構,在植物体内只在特殊組織和特殊状态下才能看到。但最近的各种研究已証实,高尔基体是在植物体内也可以普遍看到的細胞器官。