

# 大叶藻 (*Zostera marina* L.) PS I 和 PS II 复合物的分离鉴定\*

汪文俊 王广策<sup>†1)</sup> 黄勃<sup>††</sup> 曾呈奎<sup>†</sup>

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 中国科学院研究生院 北京 100039)

<sup>†</sup>(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)<sup>††</sup>(海南大学海洋学院 海口 570228)

**提要** 采用蔗糖密度梯度离心法分离纯化大叶藻类囊体膜,经 10% SDS 增溶后,用蔗糖密度梯度超速离心分离其色素蛋白质复合物。经稳态光谱分析、DCIP 光还原活性测定及  $P_{680}$ 、 $P_{700}$  差示光谱检测结果表明,20% 蔗糖层的 CP3 和 40% 蔗糖层(上)的 CP4 为 PSII 复合物,具有光化学活性;40% 蔗糖层(下)的 CP5 为 PS I 复合物,其  $P_{700}$  特征吸收峰位于 695nm 处。CP3 和 CP4 的 DCIP 光还原活性:CP3 为 34.27 微电子当量/(mg chl · h),CP4 为 7.29 微电子当量/(mg chl · h)。

**关键词** 大叶藻,类囊体膜,光合作用,PS I 复合物,PS II 复合物

**中图分类号** Q93

类囊体膜具有一些功能不同的色素蛋白质复合物,如 PS I、PS II 和  $B_6f$  等。其中 PS I 和 PS II 分别由它们的反应中心复合物和捕光色素-蛋白质复合物组成,起光能吸收、传递和转化的作用,因而在光合作用中占有关键地位。目前已对陆生高等植物 PS I、PS II 的组成、结构以及能量传递过程进行了较为深入的研究,但是对于海洋生物光合作用的研究比较少。

大叶藻 (*Zostera marina* L.) 是在海洋中进行沉水生活的高等单子叶植物,具有完整的根、茎、叶结构,在海水中完成整个生活史,包括开花、传粉和结果等。一般认为,陆生植物起源于海洋(储钟稀等, 1986; 仵小南等, 1991); 然而大叶藻等海草却是从陆地起源,推测是光合生物从海洋进化到陆地后,陆地光合生物中有一部分重返海洋,逐渐适应了海洋环境(周百成等, 1995)。因此,开展大叶藻的研究对人类认识陆生单子叶植物(如水稻、小麦等经济作物)的抗盐机制、光合生物

进化以及大叶藻在生态系统中的作用等方面有重要的启示作用。

目前有关大叶藻的研究主要在其解剖结构、生理学和生态学方面,如研究大叶藻与其附生物之间的互生关系,作为环境污染指示植物的研究,研究大叶藻在生态系统中的作用,及其限制因子的研究等(Beer *et al*, 1980; Maria *et al*, 2000; Burkholder *et al*, 1992; Zimmerman *et al*, 1991)。大叶藻耐盐机制的研究也有少量报道(叶春江等, 2002; Fukuhara *et al*, 1996; Beer *et al*, 1980)。而在大叶藻光合作用方面的研究很少,高振洋等(1995)曾用  $Ca^{2+}$  和胰酶处理大叶藻叶绿体膜,研究激发能在 PS II 和 PS I 之间分配变化的机理。有关大叶藻光系统结构与功能的研究目前尚未见报道。作者以大叶藻为材料,分离得到具有天然光谱活性和光化学活性的 PS I、PS II 复合物,为深入研究大叶藻的光合生理,进而揭示陆地生物重返海洋后对海水环境的适应机制奠定基础。

\* 国家自然科学基金面上项目,30170499 号、30250003 号;中国科学院知识创新重要方向性项目,KZCX2-211 号;国家自然科学基金重大项目资助,39890390 号;中国科学院海洋研究所知识创新前沿方向性项目资助,2002—2005。

汪文俊,硕士研究生,E-mail: wwj0807@hotmail.com

1) 通讯作者,王广策,博士,研究员,博士生导师,E-mail: gewang@ms.qdio.ac.cn

收稿日期:2003-12-01,收修改稿日期:2004-01-08

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

新鲜大叶藻(*Zostera marina* L.)于2002年3月采自青岛汇泉湾,洗净后置于-20℃冰箱中冷冻保存或置冰箱内加适量海水浸泡备用。

### 1.2 叶绿体的制备

参考 Zoltan 等(1991)、Hualing 等(1995),并略有改进:按1g材料加入10ml提取液(50mmol/L Tris-HCl, pH 7.6, 10mmol/L NaCl, 5mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 2mmol/L EDTA-Na, 0.33mol/L 山梨醇),组织捣碎机高速捣碎5min。匀浆液过滤,滤液离心(500g, 5min, 4℃),将所得上清液离心(8000g, 20min, 4℃);所得叶绿体沉淀以适量提取缓冲液悬浮,于-70℃冰箱中保存备用。

### 1.3 类囊体膜的纯化

参照刘洪艳等(2004),叶绿体悬液超声波(强度为400W)处理5min,然后离心(20 000g, 20min, 4℃)、沉淀悬浮(缓冲液:50mmol/L Tris-HCl, 10mmol/L NaCl, 5mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 2mmol/L EDTA-Na, pH 7.6),再进行蔗糖密度梯度离心(140 000g, 4h, 4℃),蔗糖密度梯度为:60%、50%、40%、30%。将类囊体膜取出,透析24h去除蔗糖,再离心(20 000g, 20min, 4℃)。沉淀悬浮于缓冲液中,并在-70℃冰箱中保存备用。叶绿素含量按 Arnon(1949)方法测定。

### 1.4 色素蛋白复合物的分离

按 Mullet 等(1980)方法并有所改进,类囊体膜 SDS 增溶后蔗糖密度梯度离心(140 000g, 15h, 4℃)。SDS/叶绿素为10:1(W/W);类囊体膜增溶液:0.3mol/L Tris-HCl, 10%甘油, 1% SDS(Ander-son *et al.*, 1978), pH 8.0;增溶时间10min。蔗糖密度梯度为:60%、50%、40%、30%、20%、15%、10%。所分离的各色带分装保存于-70℃冰箱,以便进行下一步实验。

### 1.5 可见光吸收光谱、常温荧光光谱的测定

类囊体膜以及15h超速离心后所分离得到的各个层带,采用岛津UV-240型扫描式分光光度计测定吸收光谱,窄缝宽度为2nm;采用日立850型荧光分光光度计测定常温荧光发射光谱和荧光激发光谱,窄缝宽度为5nm。

### 1.6 DCIP 光还原活性测定

DCIP(2, 6-Dichloroindophenol; 2, 6-二氯靛酚)光还原活性的测定和计算按 Kuwabara 等

(1982)的方法,测定反应液照光2min前后A<sub>580</sub>的变化,根据DCIP消光系数A=12.9/(mmol·cm)来计算被还原的DCIP量,光还原活性单位以微电子当量/(mg chl·h)表示。反应液组成:300mmol/L蔗糖、10mmol/L NaCl、25mmol/L Hepes-NaOH、0.06mmol/L DCIP、1mmol/L DPC(1, 5-Diphenylcarbohydrazide; 1, 5-联苯碳酰肼), pH 6.0。叶绿素浓度调整为10μg/ml。光照强度为15 000 lx,时间为2min。

### 1.7 P<sub>680</sub>和P<sub>700</sub>差示光谱

化学氧化还原差示光谱参照王健等(1992)方法检测,反应液为50mmol/L Hepes-NaOH, 2.5mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10mmol/L KCl, 0.5mmol/L 高铁氰化钾, 0.5mmol/L 抗坏血酸, pH 7.0。用 Beckman DU-650 分光光度计测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 类囊体膜的分离纯化

大叶藻类囊体膜经过4h的蔗糖密度梯度离心后,呈现出3条色带:40%蔗糖层褐色带、50%蔗糖层浅绿色带和60%蔗糖层深绿色带。将3条色带分别取出,进行光谱分析。在可见光区中,40%层带没有吸收峰,不具有类囊体膜色素蛋白成分;50%和60%层带的吸收谱线相似,具有436nm、680nm吸收峰和418nm、465nm肩峰,为类囊体膜,其中436nm、680nm处吸收峰来自于chl a, 418nm来源于Pheo chl a, 465nm肩峰来自chl b(图1)。其chl a/chl b为1.96。各色素的特征吸收峰见表1。



图1 类囊体膜吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of thylakoid

表 1 色素所对应的吸收峰

Tab. 1 The absorption of pigments

色素名称	去镁 chl a	chl a	chl b	管藻黄素
吸收峰(nm)	418	436,670—680	460—470,652	500—550

常温发射光谱( $E_x = 436\text{nm}$ ),发射峰为 687nm (图 2);常温激发光谱( $E_m = 680\text{nm}$ ),最大吸收峰 445nm、490nm(图 2),分别来自于 chl a、管藻黄素。

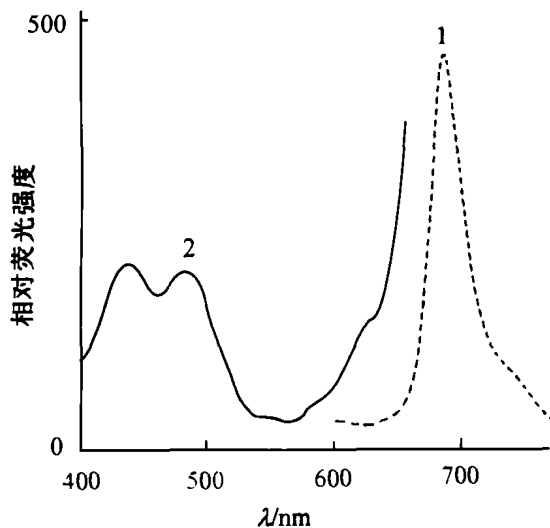


图 2 类囊体膜常温荧光发射光谱( $E_x = 436\text{nm}$ )和  
荧光激发光谱( $E_m = 680\text{nm}$ )

Fig. 2 Fluorescence emission spectra of thylakoid  
( $E_x = 436\text{nm}$ ) and fluorescence excitation spectra of  
thylakoid at room temperature ( $E_m = 680\text{nm}$ )

1. 荧光发射光谱;2. 荧光激发光谱

2.2 色素蛋白复合物的分离及其色素组成

大叶藻类囊体膜经 SDS 增溶,15h 蔗糖密度梯度离心,从中得到 6 条色素蛋白复合物带:10% 蔗糖层 CP1 为绿色的色素复合物;20% 蔗糖层 CP3 和 40% 蔗糖层(上)CP4 为浅绿色的 PS II 复合物;15% 蔗糖层 CP2 也有少量的 PS II 颗粒;

40% 蔗糖层(下)CP5,为深绿色 PS I 复合物;处于 50% 和 60% 蔗糖层之间的 CP6,为未被增溶的类囊体膜。其 chl a/chl b 分别为:CP2 2.14, CP3 1.87, CP4 1.78, CP5 3.19。

2.3 色素蛋白复合物光谱特征

2.3.1 吸收光谱(图 3) CP1 吸收峰为 418nm、540nm 和 670nm;CP2、CP3 和 CP4 光谱相似,吸收峰为 436nm、465nm 和 670nm;CP5 吸收峰为 436nm 和 670nm,主要来源于 chl a,另有少量来源于 chl b,没有看到属于管藻黄素的吸收峰。各蔗糖层色素蛋白复合物所对应的吸收峰详细数据见表 2。

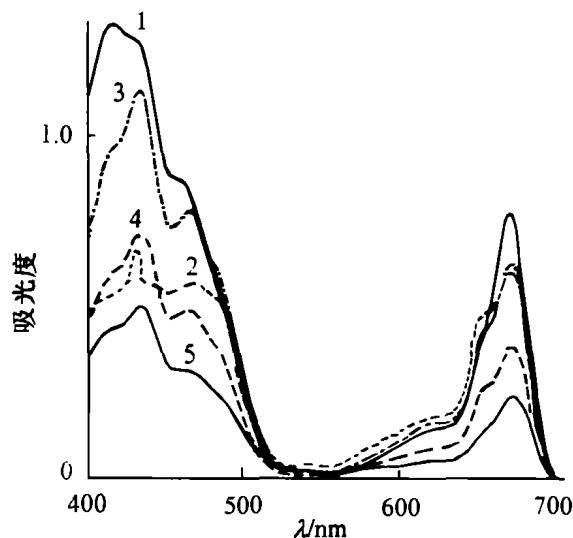


图 3 色素蛋白复合物吸收光谱

Fig. 3 Absorption spectra of chlorophyll-protein-complexes

1. CP1; 2. CP2; 3. CP3; 4. CP4; 5. CP5

表 2 类囊体膜和色素蛋白复合物的吸收峰

Tab. 2 The absorption of thylakoid and chlorophyll-protein-complexes

样品名称	吸收峰(nm)						
类囊体膜	418	436	465*	—	—	—	680
CP1	418	436*	460*	540	620*	—	670
CP2	418*	436	465	540	—	652*	670
CP3	418*	436	465	—	—	652*	670
CP4	418*	436	465	—	—	652*	670
CP5	418*	436	465*	—	—	—	670

\* 为肩峰

2.3.2 荧光发射光谱(图4)和荧光激发光谱(图5) CP1 荧光发射峰在 687nm, 荧光激发光谱 400—600nm 没有吸收; CP2 荧光发射峰在 700nm 处, 荧光激发峰为 645nm, 520nm 处有一个肩峰;

CP3 和 CP4 荧光发射峰在 695nm 处, 其荧光激发光谱中呈现一个 505—500nm 肩峰; CP5 荧光发射峰在 700nm 处, 荧光激发峰为 505nm。见表 3。

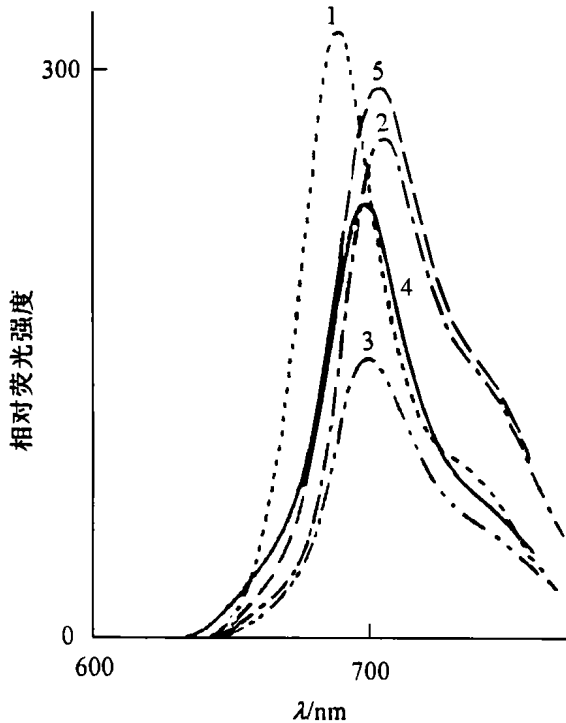


图4 色素蛋白复合物常温荧光发射光谱( $E_x = 436\text{nm}$ )

Fig. 4 Fluorescence emission spectra of chlorophyll-protein-complexes at room temperature ( $E_x = 436\text{nm}$ )

1. CP1; 2. CP2; 3. CP3; 4. CP4; 5. CP5

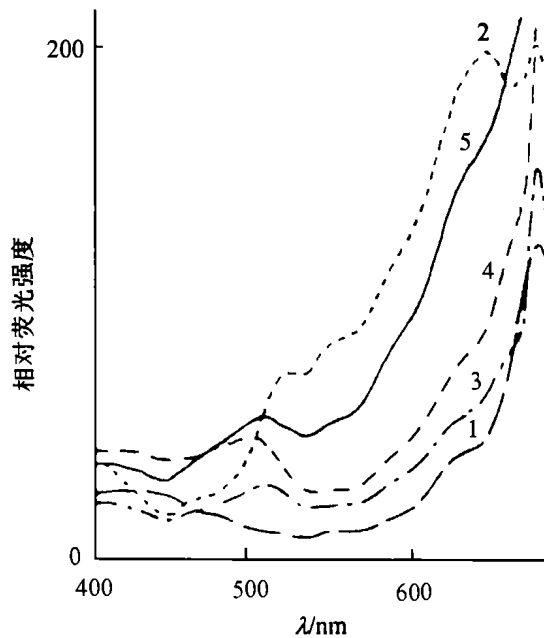


图5 色素蛋白复合物常温荧光激发光谱 ( $E_m = 670\text{nm}$ )

Fig. 5 Fluorescence excitation spectra of chlorophyll-protein-complexes at room temperature ( $E_m = 670\text{nm}$ )

1. CP1; 2. CP2; 3. CP3; 4. CP4; 5. CP5

表3 类囊体膜和色素蛋白复合物的常温荧光发射峰和激发峰

Tab. 3 The fluorescence emission peak and excitation peak of thylakoid and chlorophyll-protein-complexes

样品名称	荧光发射峰 (nm)	荧光激发峰 (nm)
类囊体膜	687	445      490      625*
CP1	687	—
CP2	700	520*      645
CP3	695	505
CP4	695	500
CP5	700	505

\* 为肩峰

2.4 色素蛋白复合物的 PS II 和 PS I 活性

通过蔗糖密度梯度离心分离大叶藻色素蛋白复合物, 得到具有光化学活性的 PS II 复合物。分离到的五条色素带分别进行了光化学活性测定,

实验检测到 CP2、CP3 和 CP4 的色素蛋白复合物具有 DCIP 光还原活性, 其中 CP3 的 DCIP 光还原活性为 34.27 微电子当量/(mg chl · h), CP2 的 DCIP 光还原活性非常低, 为 0.4 微电子当量/(mg

chl · h), CP4 的 DCIP 光还原活性为 7.29 微电子当量/(mg chl · h) [图 6, 作图方法参照王俊等 (1991)]。利用化学法氧化还原差示光谱测定  $P_{680}$ , CP3 和 CP4 在 680nm 处有明显的吸收峰(图 7), 这与 DCIP 光还原法测定的结果一致。以上结果证明, 通过蔗糖密度梯度离心, 成功分离到了具有光活性的 PS II 复合物。

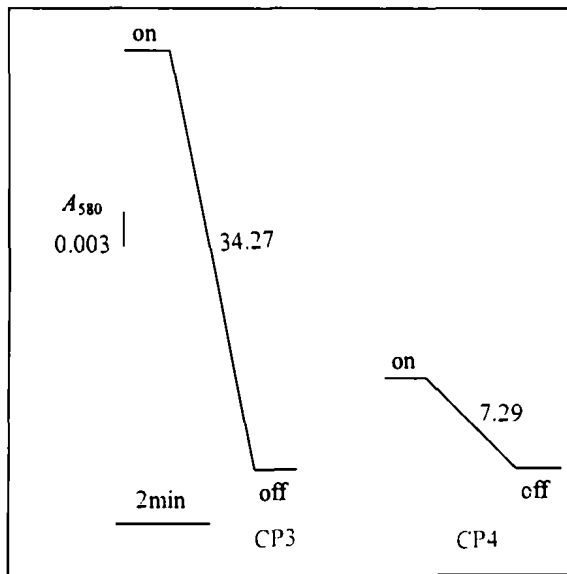


图 6 CP3 和 CP4 DCIP 光还原活性

Fig. 6 DCIP photoreduction activity of CP3 and CP4

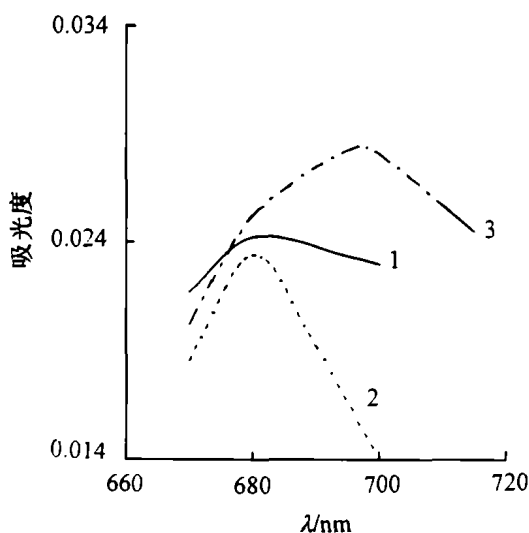


图 7 CP3、CP4 和 CP5 的  $P_{680}$  差示光谱

Fig. 7 Differential spectra of  $P_{680}$  from CP3, CP4 and CP5

1. CP3; 2. CP4; 3. CP5

$P_{700}$  差示光谱显示 CP5 有较高的 695nm 吸收

峰, 与高等植物  $P_{700}$  吸收峰相比较发生了 5nm 的蓝移, 为 PS I 复合物。

### 3 讨论与结语

#### 3.1 大叶藻类囊体膜的分离纯化

类囊体膜粗提液, 分别用不同功率的超声波处理不同的时间, 然后经过 4h 蔗糖密度梯度离心, 类囊体膜均分布于 50% 和 60% 两个蔗糖层处, 其色素组成和光谱性质一致; 而陆生高等植物类囊体膜则只分布于 50%—60% 蔗糖层处。这可能由于大叶藻为适应海水生活, 类囊体膜结构发生了相应的变化。

#### 3.2 色素蛋白复合物的分离和活性测定

大叶藻类囊体膜纯化后, 通过 SDS 增溶, 然后经过 15h 蔗糖密度梯度离心分离到 6 个层带。DCIP 光还原活性测定和  $P_{680}$  化学氧化还原差示光谱一致证实了 CP3 和 CP4 为 PS II 复合物。其中 CP3 chl a/chl b 为 1.87; CP4 chl a/chl b 为 1.78, 与陆生高等植物 PS II 颗粒的 chl a/chl b 一致(杜林方等, 1991)。CP2 也有少量 PS II 复合物的分布, 具有很低的 DCIP 光还原活性,  $P_{680}$  差示光谱未检测到 680nm 峰, 其 chl a/chl b 为 2.14, 明显高于 CP3 和 CP4, 说明 CP2 主要是捕光复合物, 含有少量的 PS II 复合物, 可能来源于 CP3 PS II 颗粒的污染。

$P_{700}$  差示光谱证实 CP5 具有  $P_{700}$  的特征峰, 在 695nm 处, 与陆生高等植物相比发生了 5nm 的蓝移, 其 chl a/chl b 为 3.19, 与陆生高等植物 PS I 复合物的 chl a/chl b 为 5.0—6.0 的结果相差较大(Haworth *et al*, 1983)。这与大叶藻的特殊生境相关, 由于大叶藻生活在海洋低潮带, 为适应海水中以蓝光为主的弱光环境, 提高 chl b 的含量以增加光合效率, 因为 chl b 对蓝光的吸收非常有效。

大叶藻作为海洋中的高等植物, 为适应海水生活, 其光合作用特性与陆生高等植物相比发生了变化。一般用蔗糖密度梯度离心法分离高等植物的内囊体膜, 仅出现一条带; 而用蔗糖密度梯度离心分离大叶藻类囊体膜时, 却发现了两条带, 分别位于两个不同的蔗糖密度层处, 而且其吸收光谱和荧光光谱完全相同。大叶藻的 PS I 差示光谱的  $P_{700}$  特征峰在 695nm, 与陆生高等植物相比发生了 5nm 的蓝移(王健等, 1992)。在色素组成方面, 大叶藻具有陆生高等植物没有, 而海洋管藻目绿藻特有的管藻黄素, 而且其色素组成的比例也

发生了很大的变化,大叶藻类囊体膜的 chl *a*/chl *b* 为 1.96,而陆生高等植物菠菜类囊体膜的 chl *a*/chl *b* 为 2.8—3.0(陈敏等,2001)。本文中以温和的蔗糖密度梯度离心方法分离得到具有天然光谱活性和光化学活性的 PS I、PS II 复合物,并对其光谱特性和色素组成作了初步的研究,为进一步的深入研究打下了基础。

### 参 考 文 献

- 王 俊,梁厚果,杜林方等,1991. 蚕豆叶中具 DCIP 光还原活性的 D1-D2-Cytb559 复合物的纯化和特性研究. 中国科学(B辑), 5: 479—484
- 王 健,徐亚南,1992. 测定  $P_{700}$  和  $P_{680}$  差示光谱的实验条件和材料的选定. 植物生理通讯, 28: 437—439
- 叶春江,赵可夫,2002. 盐胁迫对大叶藻某些胞内酶耐盐性及其生理功能的影响. 植物学报, 44(7): 788—794
- 作小南,周百成,曾呈奎,1991. 假根羽藻和菠菜的叶绿素-蛋白复合物. 植物学报, 33: 905—912
- 刘洪艳,王广策,侯和胜等,2004. 裙带菜(*Undaria pinnatifida*)色素蛋白复合物的分离及光谱特性的初步研究. 海洋与湖沼, 35(3): 284—288
- 杜林方,唐晓松,梁厚果等,1991. 几种植物 PS II 颗粒的水裂解活性、DCIP 光还原与某些性质的比较. 植物生理学报, 17(4): 342—348
- 陈 敏,李爱芬,周百成,2001. 海洋管藻目绿藻——刺松藻和假根羽藻 PS I 荧光特异性的研究. 海洋与湖沼, 32(5): 494—500
- 周百成,吴万夫,1995. 重返海洋. 见: 21 世纪初自然科学发展趋势课题组编. 21 世纪自然科学发展趋势(讨论稿). 北京: 科学出版社, 295—297
- 高振洋,马 红,娄清香等,1995. 阳离子诱导大叶藻叶绿体膜中激发能在 PS II 和 PS I 之间分配变化的机理. 植物学报, 37(11): 833—841
- 储钟稀,毛大璋,1986. 捕光叶绿素 *a/b* 蛋白复合物 LHC-1 和 LHCP<sub>2</sub> 在光系统 I 和光系统 II 中的调节和分配. 植物学报, 28: 69—78
- Anderson J M, Waldron J C, Thorne S W, 1978. Chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids. Spectral characterization of six complexes resolved by an improved electrophoretic procedure. FEBS Lett, 92—227
- Arnon D I, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24: 1—15
- Beer S, Eshel A, Waisel Y, 1980. Carbon metabolism in seagrasses. J Exp Bot, 31(123): 1027—1033
- Burkholder J M, Mason K M, Glasgow H B, 1992. Water-column nitrate enrichment on eelgrass *Zostera marina*, shoalgrass *Halodule wrightii*, and widgeongrass *Ruppia maritima*. Mar Ecol Prog Ser, 105: 121—138
- Fukuhara T, Psk J Y, Ohwaki Y *et al*, 1996. Tissue-specific expression of gene for a putative plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in a seagrass. Plant Physiol, 110: 35—42
- Haworth P, Watson J, Arntzen C J, 1983. The detection, isolation and characterization of a light-harvesting complex which is specifically associated with photosystem I. Biochim Biophys Acta, 724: 151—158
- Hualing Mi, Tsuyoshi Endo, Teruo Ogawa *et al*, 1995. Thylakoid membrane-bound, NADPH-specific pyridine nucleotide dehydrogenase complex mediates cyclic electron transport in the *Cyanobacterium synechocystis* sp. PCC6803. Plant Cell Physiol, 36(4): 661—668
- Kuwabara T, Murata N, 1982. Inactivation of photosynthetic oxygen evolution and concomitant release of three polypeptides in the photosystem II particles of *Spinach* chloroplasts. Plant Cell Physiol, 23(3): 533—539
- Maria J G, Paz J, Alberto R *et al*, 2000. Sodium-dependent nitrate transport at the plasma membrane of leaf cells of the marine higher plant *Zostera marina* L. Plant physiology, 122: 879—885
- Mullet J E, Burke J J, Arntzen C J, 1980. Chlorophyll *a/b* protein of photosystem I. Plant Physiol, 65: 814—822
- Zimmerman R C, Reguzzone J L, Wyllie-Echeverria S *et al*, 1991. Assessment of environmental suitability for growth of *Zostera marina* L. (eelgrass) in San Francisco Bay. Aquat Bot, 39: 353—366
- Zoltan Gombos, Hajime Wada, Norio Murata, 1991. Direct evaluation of effects of fatty-acid unsaturation on the thermal properties of photosynthetic activities, as studied by mutation and transformation of *Synechocystis* PCC6803. Plant Cell Physiol, 32(2): 205—211

## ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PS I AND PS II COMPLEXES FROM EELGRASS *ZOSTERA MARINA* L.

WANG Wen-Jun, WANG Guang-Ce<sup>†</sup>, HUANG Bo<sup>††</sup>, ZENG Cheng-Kui (C. K. Tseng)<sup>†</sup>

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071;

Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039)

<sup>†</sup>(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

<sup>††</sup>(Ocean Institute of Hainan University, Haikou, 570228)

**Abstract** Eelgrass *Zostera marina* L. is one of a few higher plants that live in seawater at depth of 4—5 meter. It has complete root-stem-leaf structure that higher plants possess, and its whole life history (blooming, pollinating, fruiting etc.), takes place entirely in the sea. In this living environment, *Z. marina* L. has gained a number of special physiological characteristics, and plays an important role in marine ecology. In addition, it is also important for its place in evolution of photosynthetic organisms.

It is widely believed that the most of higher plants that live on the land were originated in the ocean at the beginning of plant evolution. However, *Z. marina* L. and other seagrasses originated on the land. This suggested that, since photosynthetic organisms evolved from the sea to the land, some of them returned to the sea and gradually adapted to marine environment. The study of the photosynthetic characteristics of *Z. marina* L. is, therefore, of great interest.

In this study, *Z. marina* L. sample was first disaggregated by supersonication (400W for 5 minutes) and isolated by sucrose density gradient centrifugation for 4 hours. Then two main bands located on the 60% and 50% of the sucrose densities were collected respectively. The absorption, fluorescence emission and excitation spectra of the two bands were exactly the same, indicating that the two bands were the thylakoid membrane although their sedimentation rates were different. After that, the isolated thylakoid membrane was solubilized in SDS solution, which contains 0.3 mol/L Tris-HCl, 10% glycerol, 1% SDS, pH 8.0, for 10 minutes, and then the pigment-protein-complexes were isolated by sucrose density gradient centrifugation for 15 hours. After centrifugation, six bands clearly appeared at different sucrose densities. The complexes, except for the scraps of the thylakoid membrane between 60% and 50% of the sucrose densities, were named CP1, CP2, CP3, CP4, CP5 corresponding to the different sucrose densities: 10%, 15%, 20%, 40% (upper) and 40% (lower). The absorption, fluorescence emission and excitation spectra were determined in order to study the spectral characteristics of these pigment-protein-complexes. The DCIP photoreduction activity of each complex was measured to identify PS II particles. The data showed that CP3 with the DCIP photoreduction activity of 34.27  $\mu\text{E}/(\text{mg chl} \cdot \text{h})$  and CP4 with that of 7.29  $\mu\text{E}/(\text{mg chl} \cdot \text{h})$  were PS II complexes, which was further confirmed by  $P_{680}$  differential spectrum.  $P_{700}$  differential spectrum determination confirmed that CP5 has an absorption peak at wavelength 695nm, suggesting that CP5 was PS I complex. In comparison with the  $P_{700}$  absorption of continental higher plants, there is a 5nm blue shift. All results indicated that PS II with photoreduction activity and PS I complexes can be successfully isolated by sucrose density gradient centrifugation at 20% and 40% (lower) of sucrose densities, respectively.

**Key words** Eelgrass *Zostera marina* L., Thylakoid membrane, Photosynthesis, PS I complex, PS II complex