

^3H -BA 在花生叶片的吸收和分布

李 玲 潘瑞炽

(华南师范大学, 广州 510631)

摘 要

花生叶圆片对 ^3H -BA 的吸收方式, 以被动吸收为主, 也有主动吸收。叶圆片在 ^3H -BA 溶液中温育 2h, 吸收 BA 最多, 以后则下降。PH7.5 的介质最适合 ^3H -BA 的吸收。在 16—26°C 范围内, 吸收 BA 随温度的上升而增加。

^3H -BA 进入花生幼苗体内后, 移动性小。标记 ^3H -BA 6d 后, 滞留率仍达 97.3%。

关键词: ^3H -BA; 吸收; 分布; 花生

近年来, 有关研究 BA 代谢的报道较多, 认为 BA 进入植物体内后分解较慢。其代谢产物主要有 BA 核苷、BA 核苷酸和 BA 糖苷, BA 核苷是 BA 运输的主要形式^[4,11], 但对 BA 在植物组织的吸收及分布的报道尚少。有人曾研究过黄瓜幼苗根部^[4]和云杉外植体^[12]对示踪标记 BA 的吸收、运转, 指出其吸收与外界 BA 浓度是正比例关系。本文在证实 BA 影响花生光合产物分配和积累的基础上^[3], 研究 ^3H -BA 在花生叶片的吸收、体内分布状况, 旨在了解 BA 的作用机理。

材料和方法

植物材料 以粤油 551-116 花生 (*Arachis hypogaea* L.) 为材料, 按照前文^[3]的方法培养和处理。

^3H -BA 吸收量的测定 取叶圆片置于 0.2mol/L 甘露醇 (pH6.5) 漂洗 30min, 将 5ml-10mmol/L ^3H -BA 溶液 (内含 73.98 Bq 和 1mmol/L CaCl_2) 盛在安瓶中, 每瓶投入 20 片叶圆片, 于 26°C、暗条件下吸收, 一定时间后, 取出叶圆片, 用无离子水漂洗叶表面, 然后以 80% 甲醇提取, 4°C 过夜, 抽滤, 将滤液减压浓缩至标准体积, 加闪烁液 (用 6.5gPPO, 20mgPOPOP 和 萘 110g 溶于 1000ml 二氧六环), 用 FJ-353 双道液体闪烁计数器测定 cpm

* 缩写 BA: 苄基腺嘌呤; POP: 二苯基噻唑;
POPOP: 双-2 (5-苯噻唑) 苯; DNP: 二硝基苯酚;
CCCP: 碳酸氟氯苯胺; PCMB: 对氯汞基苯。
致谢: 中山大学刘振声副教授帮助同位素测定

值。

抑制剂处理时,叶圆片用甘露醇溶液漂洗后,分别用 CCCP、DNP、Vanadate (钒酸盐) 和 PCMB 溶液浸泡 30min, 其余步骤同上。

所用药品 CCCP、钒酸盐和 PCMB 均属 Sigma 公司产品。

$^3\text{H-BA}$ 分配率的测定 小心涂抹 $0.2\mu\text{l}$ $^3\text{H-BA}$ (含 36.99Bq/株) 于上位叶 (由下往上数第 3 叶), 处理后 2、4、6d, 切下上位叶 (标记叶)、下位叶 (即第 1 叶) 和茎, 分别用 80% 甲醇反复提取, 按前面方法测定各部位 cpm 值。

呼吸速率测定 用微量定积检压法测定^[2]。

以上实验均重复 3—4 次。

结果与讨论

一、叶圆片吸收 $^3\text{H-BA}$ 的方式

花生叶圆片对 $^3\text{H-BA}$ 的吸收可被磷酸化抑制剂 CCCP 所抑制。人们常把缺乏或加入 CCCP 的吸收分别定为总吸收和被动吸收, 总吸收与被动吸收之差则为主动吸收^[7,10]。在我们的实验中, 加入 CCCP 后, 花生叶圆片对 $^3\text{H-BA}$ 的吸收被抑制了 39.3% (表 1)。表明被动吸收占总吸收的 60.7%, 存在主动吸收方式, 这与黄瓜幼苗根、云杉和松外植体只通过被动吸收方式吸收 BA 的结论不同^[4,12]。用其它抑制剂也在不同程度上对 BA 的吸收起抑制作用。其中磷酸化抑制剂 DNP 的抑制率达 47.40%, KCN 是细胞色素氧化酶的抑制剂, 它对 $^3\text{H-BA}$ 的抑制率为 66.64%。能量抑制剂 PCMB 和钒酸盐处理花生叶圆片后, 对其吸收 $^3\text{H-BA}$ 的抑制作用最强烈, 皆达 70%。这些结果说明了叶圆片对 $^3\text{H-BA}$ 的吸收存在着依赖代谢能量的过程。

表 1 几种代谢抑制剂对花生叶圆片吸收 $^3\text{H-BA}$ 的影响

Table 1 Effects of metabolic inhibitors on the $^3\text{H-BA}$ uptake in leaves discs of peanut *

| Treatment | Concentration (nmol/L) | $^3\text{H-BA}$ Uptake (cpm/mg protein) | Inhibition (%) |
|------------------|---------------------------|--|-------------------|
| H ₂ O | | 8299.06 | |
| CCCP | 3.3×10^{-5} | 5040.49 | 39.26 |
| DNP | 2.0×10^{-4} | 4364.79 | 48.12 |
| KNP | 1.0×10^{-3} | 2767.91 | 66.64 |
| vanadate | 3.3×10^{-4} | 2479.75 | 70.12 |
| PCMB | 1.0×10^{-3} | 2339.93 | 71.81 |

* 四次重复

Four replicates per treatment.

二、影响叶圆片吸收 $^3\text{H-BA}$ 的条件

BA 溶液的 pH 会影响花生叶圆片对 $^3\text{H-BA}$ 的吸收 (图 1), 最适 pH 为 7.5 左右。溶液

pH 值的作用在于影响植物生长调节剂的解离程度。如菜豆叶圆片对 Bq 的吸收随 PH 值升高而增加，而 2, 4D、NAA 在 PH2.5—3 时，吸收效果好^[6]。

当温度从 16°C 上升到 26°C 时，花生叶圆片对³H-BA 的总吸收量随温度的上升而增加(表 2)，这时花生叶片的呼吸速率也不断升高，呼吸温度系数为 3，表明³H-BA 的吸收过程部分也受代谢控制。

表 2 温度对花生叶圆片吸收³H-BA 和呼吸速率的影响

Table 2 Effect of temperature on ³H-BA uptake and respiratory rate in leaves discs of peanut

| Temperature (°C) | ³ H-BA Uptake | Respiratory Rate |
|------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| | (cpm/mg protein) | (μ lO ₂ /gFW · h) |
| 16 | 4657.3 | 16.2 |
| 26 | 5024.9 | 49.7 |

* 重复三次

Three replicates per treatment

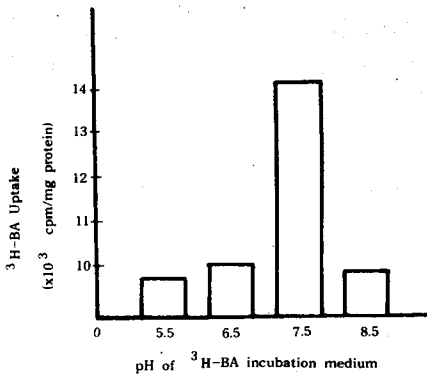


图 1 PH 对花生叶圆片吸收³H-BA 的影响

Fig. 1 Effect of PH on ³H-BA uptake in leaves discs of peanut

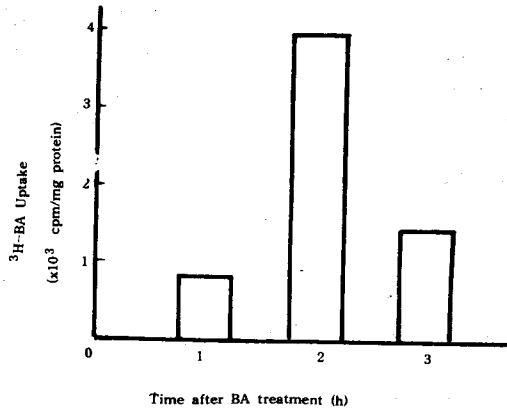


图 2 花生叶圆片吸收³H-BA 的时间进程

Fig. 2 Time course of ³H-BA uptake in leaves discs of peanut

一般认为，植物组织对植物生长调节剂的吸收，分为迅速吸收和缓慢吸收两个阶段^[5]。分析花生叶圆片对³H-BA 吸收的时间进程可看到(图 2)，花生叶圆片在³H-BA 溶液温育 2h 内，对³H-BA 的吸收量增加，达到饱和。2h 后，进入第 I 阶段，叶圆片对³H-BA 的吸收量减少，到温育 4h，降低了 63.2%。Letham 等^[9]比较番茄根对激动素、玉米素和 BA 的吸收与代谢的关系时发现，玉米素吸收最快，进入体内后分解迅速。BA 吸收速率比玉米素、激动素较慢，代谢产物产生最迟。这似乎表明 BA 吸收速率与分解作用互相关联。

三、³H-BA 在花生体内的分布

从表 3 看到标记叶在标记³H-BA 后第 2、4、6d,³H-BA 的滞留率分别为 99.40%、98.95%和 97.59%,说明 BA 在花生体内的移动性小,作用时期较长,一般认为,外施 CTK 类物质于果实、茎尖、叶片后,极少向外转运^[1-5],我们的实验得出相同的结论。叶片、果实和茎尖可能是 CTK 库,所以外施 CTK 类物质在植物体内移动性小。另外,BA 在植物体内代谢分解慢也可能是 BA 移动性小的原因之一,已知植物体内存在着细胞分裂素氧化酶系统,可将 CTK 上的侧链氧化而失去生物活性^[6,13]。有实验证明细胞分裂素氧化酶对 BA 的分解作用小,例如¹⁴C-BA 进入去顶番茄^[8]和黄瓜幼苗^[4]体内 15d 以后,BA 分解作用小,代谢产物有少量的 BA 核苷和腺嘌呤出现。

表 3 ³H-BA 在去顶去根花生幼苗体内的分布
Table 3 Distribution of ³H-BA in decapitated-derooted peanut seedlings

| Days after Treatment | ³ H-BA Distribution | | | | | |
|----------------------|--------------------------------|-------|------------|------|------|------|
| | Labelled Leaf | | Lower Leaf | | Stem | |
| | cpm | % | cpm | % | cpm | % |
| 2 | 79455 | 99.40 | 361 | 0.45 | 118 | 0.15 |
| 4 | 92953 | 98.95 | 714 | 0.76 | 266 | 0.28 |
| 6 | 84124 | 97.59 | 1443 | 1.67 | 630 | 0.73 |

* 重复三次

Tree replicates per treatment

参考文献

- [1] 丁静,细胞分裂素,植物生理学讲座——纪念罗宗洛教授(《植物生理学通讯》编辑部主编)。科学出版社,1987, 244—262。
- [2] 上海植物生理学会编,植物生理学实验手册,上海科学技术出版社,1985, 526—532。
- [3] 李玲,潘瑞炽,BA 对光合产物分配、积累和碳水化合物化合物的影响。植物生理学通讯,1991, 27 (5): 363—365。
- [4] 张忠福、陶国清,6-苄基腺嘌呤在黄瓜幼苗中运输和代谢的研究。青年植物学研究,1987, 1: 81。
- [5] 徐绍颖,植物生长调节剂与果树的生长,上海科学技术出版社,1987, 189—191。
- [6] Bukovac, M. J. and E. Yudo Endogenous plant growth substances in developing fruit of *prunus cerasus* L. *Plant physiol.*, 1979, **63**: 129—132。
- [7] Daie, J., Bioregulator enhancement of sink activity in sugar beet. *plant Growth Regul.*, 1987, **5**: 219—228。
- [8] Forsyth, C and J. V. Staden, Cytokinin metabolism in tomato plants. II. Metabolites of kinetin and benzyladenine in decapitated roots. *plant Growth Regul.*, 1987, **6**: 277—292。
- [9] Letham, D. S. and L. M. S. Palni, The biosynthesis and metabolism of cytokinin. *Ann. Rev. plant Physiol.*, 1983, **34**: 163—197。
- [10] Macklon, A. E. S. and N. Higinbotham, Active and passive transport of potassium of excised pea epicotyls. *Plant physiol.*, 1970, **45**: 133—138。
- [11] Van Staden, J., A. D. Bayley, S. J. Upfold and F. E. Drewes, Cytokinins in cut carnation and flower longevity. *J. Plant physiol.*, 1990, 703—707。
- [12] Vogelmann, T. C., Uptake BA in explants of *picea abie* and *pinus sylvestris*, *physiol. plant*, 1984, **61**: 513—517。

[13] Whilly, C. D. and R. H. Hall, A cytokinin oxidase in *Zea mays*. *Can. J. Biochem.*, 1974, 52: 789-799.

UPTAKE AND DISTRIBUTION OF ³H-BA IN PEANUT LEAVES

Li Ling and Pan Ruichi

(*South China Normal University*, Guangzhou 510631)

Abstract

The uptake of ³H-BA by leaf discs of peanut existed in two forms, active and passive forms, and the latter was about 60.7% of total amount absorbed. When leaf discs were incubated with ³H-BA, the maximum amount of this chemical taken in was found after 2 hours and then decreased. A pH optimum at 7.5 could benefit the ³H-BA uptake by leaf discs. At the range of 16-26°C, the amount of BA absorbed by leaf discs was increased with temperature.

When the leaves of decapitated-derooted peanut plants were smeared with ³H-BA, 97.3% of this chemical still remained in labelled leaves after 6 days. It seems that the mobility of BA in peanut plant is low.

Key words: ³H-Benzyladenine; Uptake; Distribution; Peanut