

植物细胞分裂素的糖苷物生物活性分析

于惠敏¹ 侯丙凯^{2,*}

¹ 山东教育学院生物科学与技术系, 济南 250013; ² 山东大学生命科学院, 济南 250100

提要 用附加细胞分裂素及其糖苷物的MS培养基, 垂直培养拟南芥并测定根的伸长, 以此分析细胞分裂素及其糖苷物的生物学活性的结果表明, 细胞分裂素的N-糖苷物几乎完全失去细胞分裂素活性, 而O-糖苷仍具有细胞分裂素活性。推测两类糖苷物对植物体内细胞分裂素活性可能有不同的调控作用。

关键词 细胞分裂素; 糖苷; 生物活性; 拟南芥

Analysis on the Bioactivity of Cytokinin Glucosides in Plant

YU Hui-Min¹, HOU Bing-Kai^{2,*}

¹Department of Bioscience and Biotechnology, Shandong College of Education, Jinan 250013, China; ²College of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China

Abstract The bioactivities of cytokinins and their glucosides were analyzed by investigating the effects of those hormones on root elongation of vertically grown *Arabidopsis thaliana* L. Bioassay showed that the N-glucosides of cytokinins had lost nearly all the activities of cytokinins, while O-glucosides still kept nearly the same activity as free cytokinins. These results suggested that N-glucosides and O-glucosides of cytokinins might play different roles in regulating cytokinin activity in plant.

Key words cytokinin; glucoside; bioactivity; *Arabidopsis thaliana* L.

天然存在的细胞分裂素在结构上属于N⁶-位取代的腺嘌呤衍生物, 其主要作用是促进细胞分裂, 但对植物生长发育的调节控制涉及到许多方面, 如种子萌发、茎尖分生组织的形成与维持、花和果实的发育、叶绿体分化、植物与病原相互作用、叶片衰老等(Haberer和Kieber 2002; 王兆龙和曹卫星 2000)。在植物体内, 细胞分裂素有时与葡萄糖缀合形成糖苷物, 这种糖基化产物是细胞分裂素的主要修饰方式(Mok和Mok 2001; 张红梅等 2003; Hou等 2004)。细胞分裂素的糖基化可发生在嘌呤环和N⁶侧链上。嘌呤环上的糖基化以N⁷位和N⁹位为主, 分别形成相应的N-糖苷。N⁶侧链的糖基化则主要发生在一OH位置上, 形成相应的O-糖苷。

细胞分裂素糖苷物的生物学活性, 一直是人们关心的问题。它不仅涉及到细胞分裂素糖苷物可能的生理作用, 而且还关系到植物体内细胞分裂素的代谢调控机制。目前, 细胞分裂素糖苷物生物活性的研究并不多见。仅有的几个工作(Latham等1983; Kato等2002)主要是用植物的子叶或叶片为材料作糖苷物活性分析的, 这些工作

的结果表明, 除了个别情况外, 通常是细胞分裂素N⁷-和N⁹-糖苷物的生物学活性均显著低, 而细胞分裂素O-糖苷物的活性则无明显变化, 甚至远远高于未糖基化的细胞分裂素。本文以拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)的根为材料, 对细胞分裂素糖苷物的生物学活性进行了分析。现报道如下。

材料与方法

MS基本培养基附加30 g·L⁻¹糖, 另加不同浓度的细胞分裂素及其糖苷物。由于植物体内的细胞分裂素以含有异戊烯侧链的类型为主(Haberer和Kieber 2002), 所以, 本文中的实验选用最具有代表性的细胞分裂素及其糖苷物: 玉米素(Z)、异戊烯基腺嘌呤(iP)、玉米素N⁹-糖苷物(Z9G)、异戊烯基腺嘌呤N⁷-糖苷物(iP7G)以及玉米素O-糖苷物(ZOG)。它们在培养基中的浓度设置梯度如下: 0(对照)、0.1、1、10 μmol·L⁻¹。为便于

收稿 2006-06-19 修定 2006-09-06

*通讯作者(E-mail: bkhou@sdu.edu.cn, Tel: 0531-88364525)。

比较起见, 各培养基中除了上述物质的种类和浓度不同以外, 其它成分均相同。

垂直平板培养拟南芥时, 选择饱满、大小一致的拟南芥(*Arabidopsis thaliana* Col-0)种子, 表面消毒后接种在培养皿内的培养基上, 种子成直线排列, 每个培养皿接种 20~30 粒种子。每一处理都重复 3 次。接种后放在 4℃ 暗培养 3 d, 然后转到培养室中垂直平板培养。培养室温度控制在 (22±1)℃, 光照条件为每天 16 h 光/8 h 暗, 光强 180 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右。培养 10 d 后, 先对根的生长状况拍照, 后用镊子将根轻轻取出, 准确测量每一条根的长度。求出每一个平皿中的根长值, 取平均值并作标准误差分析。

结果与讨论

培养 10 d 以后, 细胞分裂素和它们的糖苷物对根生长的效应明显不同。未加细胞分裂素的培养基上, 根长达到 4.2 cm 左右(图 1-a)。添加 0.1~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Z 或 iP 后, 根生长受到明显抑制, 即使在最低浓度值 (0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下, 根的长度大约也只有不加细胞分裂素的 1/2。在 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下, 细胞分裂素对根生长的抑制更加明显, 根的长度只有不加细胞分裂素的 1/4 左右(图 1-b、c), 且叶呈紫红色, 表明游离态的细胞分裂素不仅能够抑制根的伸长, 而且还可能影响叶绿素的合成。

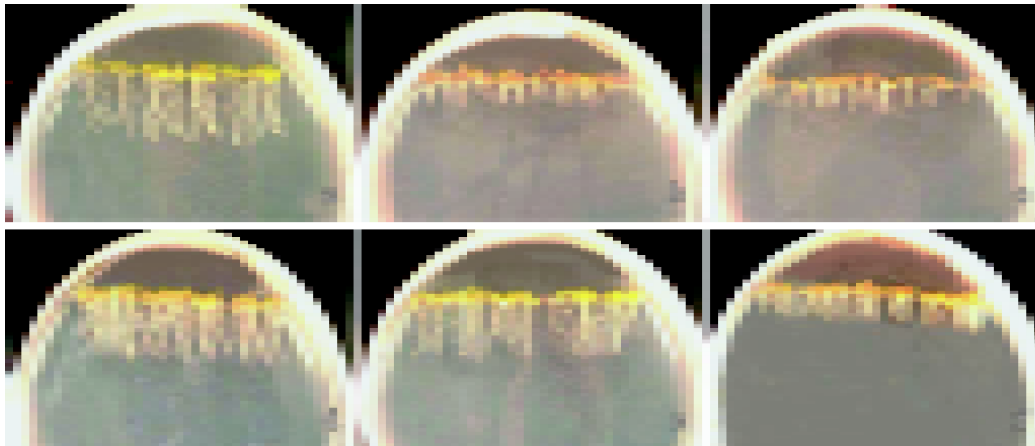


图1 细胞分裂素及其糖苷物对拟南芥根生长的影响

Fig. 1 Effects of cytokinins and their glucosides on the root growth of *A. thaliana*

a: 不加细胞分裂素(对照); b~f: 培养基中分别添加 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Z (b)、iP (c)、Z9G (d)、iP7G (e) 和 ZOG (f)。

培养基中添加细胞分裂素的 *N*-糖苷物以后, 根生长和叶颜色几乎不受影响(图 1-d、e, 图 2); 只有在高浓度 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下, 根的生长才表现出极轻微的抑制。

细胞分裂素的 *O*-糖苷物表现出的效应与 *N*-糖苷物不同。其浓度在 0.1~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内, 除了 0.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下根生长受到较弱的抑制以外, 在其它浓度下, *O*-糖苷物的抑制作用与游离态细胞分裂素的抑制作用非常相似(图 1-f, 图 2)。

综上所述, 我们可以得到如下两点认识:

(1) 转基因研究和离体培养实验均已证实, 细胞分裂素对根的生长有很强的抑制作用(Werner等 2003; Auer 1996)。因此, 可以根据植物根的生

长状况判别细胞分裂素生物活性的高低。本文用

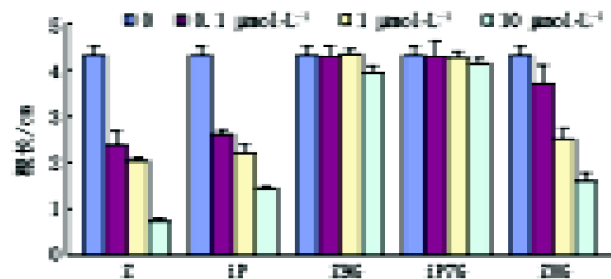


图2 不同浓度的细胞分裂素及其糖苷物对拟南芥根长度的影响

Fig. 2 Effects of cytokinins and their glucosides in different concentrations on the root length of *A. thaliana*

拟南芥根进行实验的结果显示, 游离态细胞分裂素具有很高的生物学活性, 在我们试验的浓度范围内, 其对根生长有很强的抑制作用。细胞分裂素发生 *N*-糖基化后, 细胞分裂素的活性几乎完全丧失, 对根的生长没有表现出抑制作用; 而发生 *O*-糖基化后, 其活性有部分降低, 但大部分活性仍保留, 未观察到 *O*-糖苷物比游离态激素有更高的活性。

(2) 一般认为, 细胞分裂素的 *N*-糖苷是其永久失活的形式, 活性无法逆转; 而 *O*-糖苷则是其暂时失活的形式, 在一定条件下可通过去糖基化而恢复原来的活性(Haberer和Kieber 2002)。按照这种观点, 本文中细胞分裂素的2类糖苷之所以出现迥然不同的结果, 很可能是由于植物体内存在某种糖苷酶, 它能特异性地催化 *O*-糖苷而非 *N*-糖苷去糖基化, 从而使 *O*-糖苷物可恢复游离态细胞分裂素的活性。另一种可能则是, 细胞分裂素的 *O*-糖苷物本身就具有与游离态相似的活性。本文结果则显示, 细胞分裂素的 *N*-糖苷物和 *O*-糖苷物都呈现出明显不同的生物学活性, 表明2类不同糖苷物的形成对植物体内细胞分裂素活性可能都有调控作用。今后应进一步对细胞分裂素的糖苷酶基因以及与糖基化相关基因进行克隆与功能鉴

定, 以增进对这一问题的认识。

参考文献

- 王兆龙, 曹卫星(2000). 细胞分裂素对植物基因表达的调节. 植物生理学通讯, 36 (1): 83~89
- 张红梅, 王俊丽, 廖祥儒(2003). 细胞分裂素的生物合成、代谢和受体. 植物生理学通讯, 39 (3): 86~91
- Auer CA (1996). Cytokinin inhibition of *Arabidopsis* root growth. *J Plant Growth Regul*, 15: 201~206
- Haberer G, Kieber JJ (2002). Cytokinins. New insights into a classical phytohormone. *Plant Physiol*, 128: 354~362
- Hou B, Lim E-K, Higgins GS, Bowles DJ (2004). *N*-Glucosylation of cytokinins by glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem*, 279: 47822~47832
- Kato C, Kato H, Asami T, Satoh S (2002). Involvement of xylem sap zeatin-*O*-glucoside in cucumber shoot greening. *Plant Physiol Biochem*, 40: 949~954
- Letham DS, Palni LMS, Tao GQ, Gollnow BI, Bates CM (1983). Regulators of cell division in plant tissues XXIX. The activities of cytokinin glucosides and alanine conjugates in cytokinin bioassays. *J Plant Growth Regul*, 2: 103~115
- Mok DWS, Mok MC (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 52: 89~118
- Werner T, Motyka V, Laucou V, Smets R, Van Onckelen H, Schmülling T (2003). Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell*, 15: 2532~2550