

在甜椒 (*Capsium frutescens* L.) 花药培养 中 ^3H -cAMP掺入的放射自显影

张述祖

(北京师范大学生物系植物细胞研究室)

万树青

(武汉师范学院生物系)

THE AUTORADIOGRAPHY OF ^3H -cAMP IN THE CULTURE OF SWEET-PEPPER (*CAPSICUM FRUTESCENS* L.) ANTHERS

Zhang Shuzu

(Department of Biology, Beijing Teacher's University)

Wan Shuqing

(Department of Biology, Wuhan Teacher's College)

提 要

为了了解外源 ^3H -cAMP在甜椒花药培养过程中的掺入途径, 我们做了 ^3H -cAMP掺入的放射自显影观察。

初步观察有如下现象:

(1). 从3小时到60小时均有标记现象, 以12小时标记为多。标记以药隔

维管束附近最早出现,以后相继在小孢子处出现。而表皮、纤维层、绒毡层标记很少。与 ^3H -Tdr比较,似乎二者掺入途径各不相同。 ^3H -cAMP可能先沿药隔维管束掺入,然后转向小孢子。

(2). 被标记的细胞具有沿膜性标记的特点。

近十余年来,许多研究工作表明:环化腺一磷 cAMP 与环化鸟一磷 cGMP 分别作为第二信使,调节控制细胞内各种生理代谢,以及细胞分裂分化的物质。在细胞内通过下列反应生成 ATP: $\text{腺苷环化酶} \xrightarrow{\text{Mg}^{++}} \text{cAMP} + \text{ppi}$,腺苷环化酶作为受体蛋白存在于一切动物及微生物和部分植物细胞的质膜上。有关 cAMP 和 cGMP 的研究工作,例如细胞内各种调节控制作用⁽³⁾,以及组化中的定性定位分析等⁽⁴⁾,在动物细胞中有比较深入的研究。在植物方面、细菌、粘菌、真菌、衣藻、眼虫藻、苔藓等环核苷酸的作用都有大量肯定的报导⁽¹⁾。在高等植物中是否有同样的结论,尚有争论。我们在组织培养中,加入外源环核苷酸,以及对有关酶的激活和抑制,得出加入 cAMP 在一定浓度范围内抑制细胞分裂,有降低愈伤组织产生的现象。为了验证外源核苷酸是否进入高等植物细胞内,了解它的掺入途径,我们做了甜椒花药在组织培养中 ^3H -cAMP 的放射自显影工作。

材 料 和 方 法

我们采用甜椒 (*Capsicum frutescens* L.) 两种材料的花药,一个是高诱导率的(旅大×黄金勋章),一个是低诱导率的茄门,高诱导率的是13.6%,低诱导率的是3%⁽²⁾。材料来自北京农科院海淀农科所。在花粉单核期,进行花药离体培养。

基本培养基为NTH,附加激动素1ppm、蔡乙酸0.5ppm, ^3H -cAMP 2微居里/毫升。接种后在28℃条件下培养,分别在3小时、12小时、24小时、36小时、48小时、60小时,固定于3%戊二醛中,石蜡切片,涂核Ⅳ型核子乳胶,低温(4℃)曝光14天,显影定影,天青Ⅱ染色,显微镜下观察。

观 察 结 果

1. 两种材料从3小时到60小时均有标记(见图版Ⅶ、Ⅷ),以12小时标记颗粒为最多。主要分布在药隔维管束和药隔薄壁细胞。但低诱导率材料掺入慢。
2. 标记颗粒以药隔维管束附近最早出现,以后相继在小孢子处出现。
3. 花药表皮、纤维层、绒毡层标记颗粒很少。
4. 标记颗粒在细胞中分布具有沿膜性的特点。

讨 论

^3H -cAMP 掺入甜椒花药途径: 我们根据样品中的放射性物质的分布,定位和数

量,以判断该物质在体内的动态变化过程。从观察的结果来看 ^3H -cAMP可能先掺入到药隔维管束,通过药隔维管束转运到花药内部,继而掺入小孢子。值得注意的是,这种掺入途径与 ^3H -Tdr不同, ^3H -Tdr在花药组织培养中,药隔维管束标记颗粒甚少。因而我们推测,外源cAMP的掺入可能通过维管束进入花药内部到小孢子内。

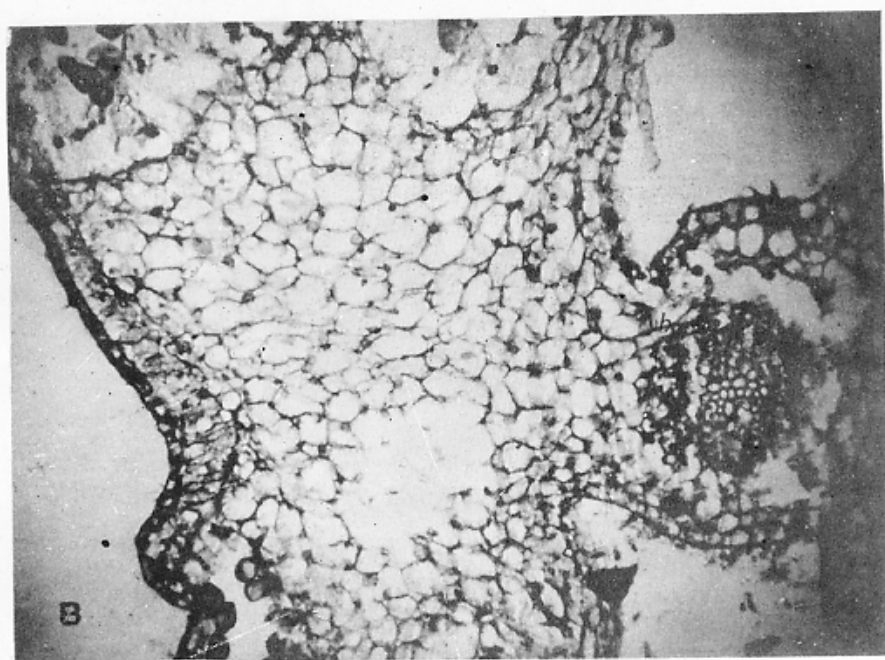
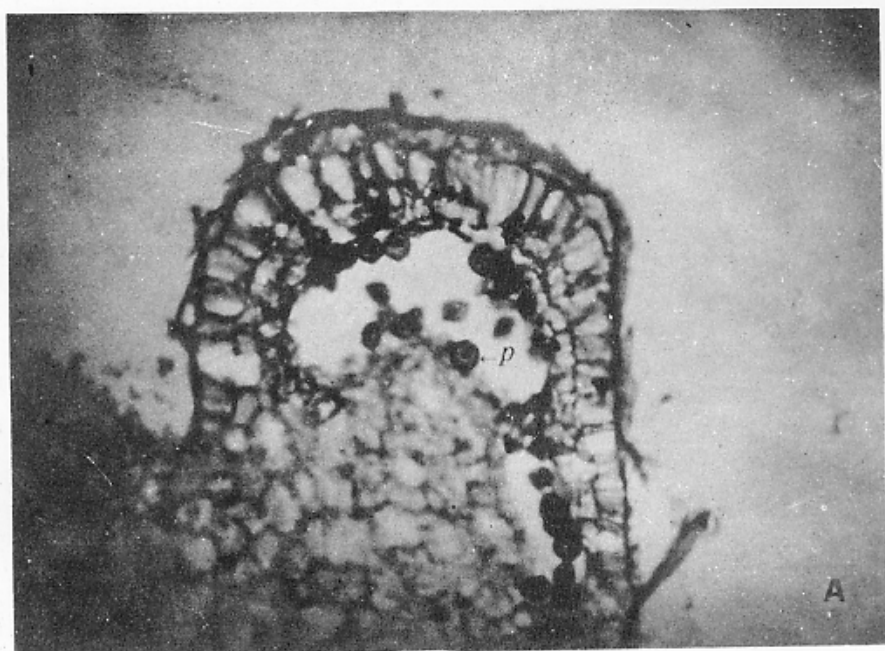
^3H -cAMP沿膜分布情况:由于腺苷环化酶存在于细胞质膜上,当激素作用于此酶受体部位时酶被激活,使ATP产生cAMP。而我们用 ^3H -cAMP来进行标记细胞,当 ^3H -cAMP掺入细胞后,标记的颗粒在细胞中分布具有沿膜性的特点,可以说明cAMP在高等植物细胞中分布于质膜附近的,同时也可以证明外源cAMP能够掺入花药的组织细胞,呈沿膜性分布。

不同诱导率的材料 ^3H -cAMP掺入的情况:观察结果表明,诱导率高的旅大×黄金勋章与诱导率低的旅大的花药在 ^3H -cAMP标记过程中表现不同,高诱导率的花药对于 ^3H -cAMP掺入快些,而且低诱导率的花药掺入速度慢。在12小时,旅大×黄金勋章的标记颗粒与旅大的标记颗粒分布部位相同,但前者的出现颗粒较多,而且 ^3H -cAMP掺入也快。这种掺入的快慢和量的多少,是否与该材料诱导愈伤组织和分化成植株有关,根据我们在其它植物的组织培养中,加入外源环核苷酸对植物细胞分裂、分化的影响表明cAMP对促进分化起一定的作用,这点也与旅大×黄金勋章和旅大的花药培养成花粉植株的结果也是相符的。

综上所述,根据Wiedmaier在一九七六年所作的 ^3H -cAMP掺入植物细胞的报告⁽⁵⁾,我们采用甜椒花药在组织培养中进行 ^3H -cAMP放射自显影观察,和外源cAMP对细胞生物学效应,可以说,高等植物与动物、低等植物一样,可能存在着第二信使系统。这种第二信使系统同样起着调节控制细胞的各种物质代谢、基因表达和各种生理现象的作用。

参 考 文 献

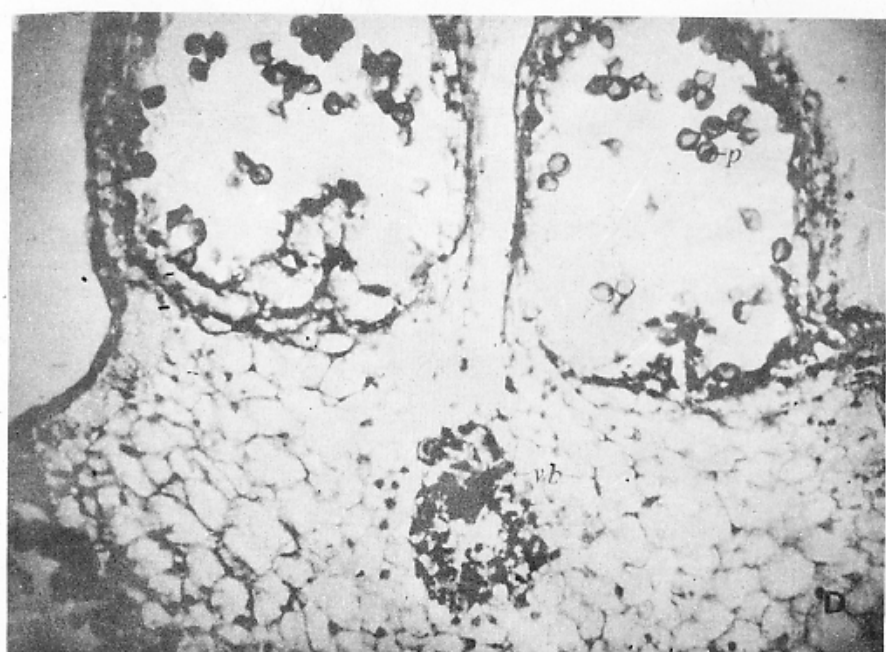
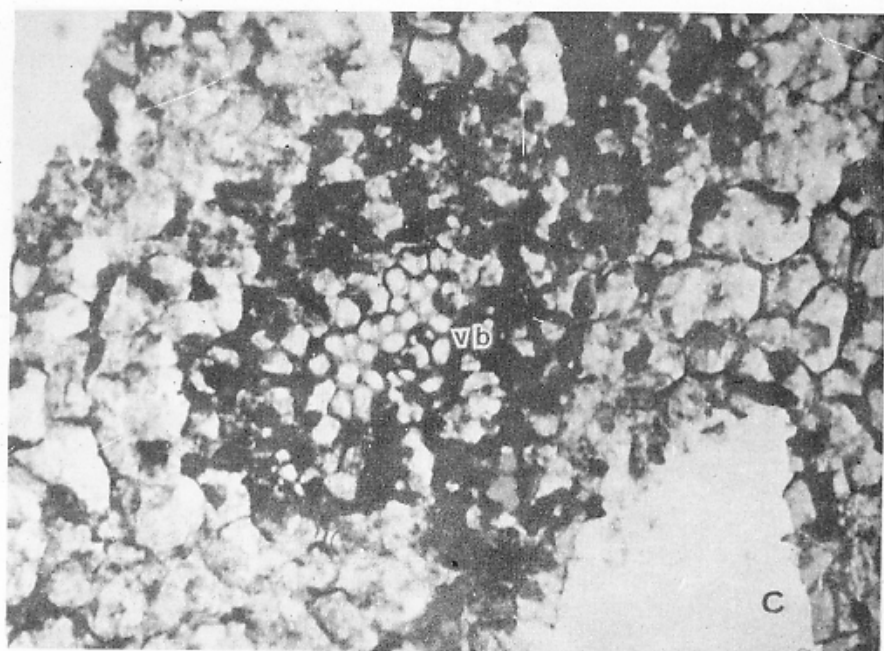
- (1) 张述祖等,1980;北京师范大学学报(自然科学版),第三、四期,131-136.
- (2) 蒋仲仁等,1980;园艺学报,33-38.
- (3) 郑国谱,1980;细胞生物学,88-92.
- (4) 赵孟莲,1982;细胞生物学杂志,19-22.
- (5) Wiedmaier, J, Kull, U, Naturwissenschaften 1976, 63:147.



图版 VII

A 旅大×黄金勋章³H-CAMP 掺入12小时显微图，花粉有标记颗粒
(见箭头)。×600 (P: 花粉)

B 旅大×黄金勋章³H-CAMP 掺入24小时显微图，药隔维管束和花
粉均标记，×600 (V.b 药隔维管束，P 花粉)



图版 VIII

C 旅大 × 黄金勋章³H-CAMP 掺入36小时显微图，药隔维管束处被标记。× 600 (V.b 药隔维管束)

D 旅大 × 黄金勋章³H-CAMP 掺入48小时，药隔维管束，花粉均标记。× 600。