

# 利用显微放射自显影技术研究 $B_0$ 对花生胚根核酸和蛋白质合成的影响

刘振声

(生物学系)

国内外许多学者对植物生长调节剂  $B_0$  (N-二甲氨基琥珀酰胺酸) 在花生上的生理效应和作用机理以及生长素促进植物细胞DNA、RNA、蛋白质的合成等方面进行了研究<sup>[1-8,10,11,12]</sup>, 但 $B_0$ 对花生胚根细胞内DNA、RNA和蛋白质的合成影响尚少报导。我们用标记化合物 $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷、 $^3\text{H}$ -尿嘧啶核苷和 $^{35}\text{S}$ -蛋氨酸作为DNA、RNA和蛋白质的前体, 采用显微放射自显影技术研究 $B_0$ 对花生胚根DNA、RNA和蛋白质合成的影响。

## 1. 材料和方法

花生品种: “粤油551”, 挑选精壮的花生种子100粒浸泡在自来水中4小时后, 置室温下(27℃左右)催芽16小时, 种子胚根刚露白时, 剥取大小一致、完整的胚轴84个, 平分成两组, 其中一组在2,000ppm  $B_0$ 溶液中处理1小时, 另一组浸在蒸馏水中作为对照。

标记化合物: [ $^3\text{H}$ -甲基]胸腺嘧啶核苷( $^3\text{H}$ -TdR, 放射性比强度为27.2居里/毫克分子)和[5- $^3\text{H}$ ]尿嘧啶核苷( $^3\text{H}$ -Urd, 放射性比强度为20居里/毫克分子)由中国科学院上海原子核研究所提供; L- $^{35}\text{S}$ 蛋氨酸( $^{35}\text{S}$ -Met)由中国医学科学院放射医学研究所提供。示踪的标记化合物浓度: $^3\text{H}$ -TdR和 $^3\text{H}$ -Urd的放射性比度为 $5\mu\text{C}/\text{ml}$ ,  $^{35}\text{S}$ -Met为 $4\mu\text{C}/\text{ml}$ 。将 $B_0$ 处理后的花生胚轴用自来水冲去胚轴表面的 $B_0$ , 分为6组, 包括对照6组共12组, 每组胚轴为7粒, 分别放进上述标记化合物中, 2小时后取出, 用自来水冲洗胚轴, 直到冲洗液到本底为止, 后分别转入有滤纸的培养皿中继续培养, 经6小时和12小时分别取样, 用Carnoy固定液固定2小时, 常规石蜡切片法制片, 纵切, 厚度 $8\mu$ 。脱蜡后, 在切片上涂上一层0.5%的火绵胶保护层, 再涂布核子乳胶(核-4乳胶, 北京401所研制, 用双蒸水将乳胶稀释一倍), 自然凉干后, 装入暗盒, 放进冰箱(4℃), 曝光20天。用 $D_{10}$ 显影液显影3分钟, 在停影液中停影10秒钟, 再在酸性坚膜定影液中定影20分钟, 蒸馏水中洗5次, 每次一分钟, 用1%番红染色, 脱水、透明后用光学树脂胶封片, 最后在显微镜下观察并进行显微照相。选择同一组织部位(分裂区, 处在S期), 计算对照组和处理组的总细胞数、标记细胞核数(DNA)、标记的核仁数

本文1982年9月收到。 刘元协助部分制片, 吕雪莲协助显微照相。

(RNA)及細胞內銀顆粒總數。每個組合都計算十個以上視野(每個視野100個細胞左右),取平均值。

## 2. 試驗結果

(1)  $B_0$ 對花生胚根DNA合成的影響 由表1可見,經 $B_0$ 處理6小時後,在同一視野內,被 $^3H$ -TdR標記的細胞核數目,處理組比對照組多約四分之一;特別是每個細胞核的銀顆粒數處理組比較密集,而對照組則較稀疏,處理為對照組的三倍。說明經 $B_0$ 處理後的花生胚根的DNA合成增強了。經12小時(即吸水35小時)後,也有同樣的規律。

表1  $^3H$ -TdR進入花生胚根細胞核情況

處理後時間	處理	平均每個視野統計的細胞數	標記的細胞核數	銀顆粒總數	平均每個細胞銀顆粒數
6小時	對照	131	32	960	7.3
	2000ppm $B_0$	130	44	2919	22.4
12小時	對照	90	10	426	4.7
	2000ppm $B_0$	91	18	745	8.2

(2)  $B_0$ 對花生胚根RNA合成的影響 RNA首先在核仁中合成,核仁的標記數和平均每個細胞銀顆粒數,均比DNA合成少。但和DNA一樣經 $B_0$ 處理後促進了RNA的合成,處理6小時後核仁標記數和平均每個細胞銀顆粒數,處理組均比對照組高出一倍左右(表2)。處理後經12小時,處理組RNA的合成較對照組增長較少,標記的核仁數差不多相等,只是平均每個核仁銀顆粒數處理組略高於對照組。說明經 $B_0$ 處理的花生胚根和DNA一樣促進了RNA的合成,只是不如DNA顯著。

表2  $^3H$ -Urd進入花生胚根細胞核仁情況

處理後時間	處理	平均每個視野統計的細胞數	標記的核仁數	銀顆粒總數	平均每個細胞銀顆粒數
6小時	對照	71	13	351	4.9
	2000ppm $B_0$	76	23	828	10.9
12小時	對照	102	37	999	9.8
	2000ppm $B_0$	105	37	1443	13.7

(3)  $B_0$ 對花生胚根蛋白質合成的影響 從表3可以看到,花生胚根細胞中蛋白質

的合成和RNA的合成一致,前期合成较缓慢,到浸种萌发35小时后有较明显的增强,银颗粒在细胞中分布较分散,不少分布在靠近细胞壁区域。经 $B_0$ 处理6小时后,平均每个细胞银颗粒数,处理组比对照组高出近一倍。

表3  $^{35}\text{S-Met}$ 进入花生胚根细胞的情况

处理后时间	处理	平均每个视野统计的细胞数	标记的细胞数	银颗粒总数	平均每个细胞银颗粒数
6小时	对照	93	85	1020	11.0
	2000ppm $B_0$	107	103	1957	18.3
12小时	对照	83	77	1925	23.2
	2000ppm $B_0$	86	80	2000	23.3

### 3. 讨论

显微放射自显影能看到物质的形态结构与某些物质的分布,给出生动、直观的结果。核子乳胶中每个溴化银晶体,都是一个独立的探测器,在延长曝光时间的情况下,能测到极其微弱的放射性,即使24小时中的一个记数也可以记录下来。 $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷是DNA的特异前体,进入生物体后可集中地标记在细胞核,通过计算核中的银颗粒数,可以做到DNA生物合成的精确定位和定量。所以放射自显影技术已被广泛地应用在医学、农学和生物学问题的研究上,成为示踪原子的一个重要有效的探测技术。

我们用标记化合物 $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷、 $^3\text{H}$ -尿嘧啶核苷和 $^{35}\text{S}$ -蛋氨酸作为DNA、RNA和蛋白质的前体,采用显微放射自显影技术研究 $B_0$ 对花生胚根DNA、RNA和蛋白质合成的影响,研究结果表明:花生种子萌发初期剥下的胚根,经 $B_0$ 处理后,均促进了DNA、RNA和蛋白质的合成,增加DNA的合成尤为显著。Jacobs (1979)指出<sup>(9)</sup>,生长素的产生与核酸的代谢是紧密联系在一起,的。 $B_0$ 虽是生长延缓剂,但它能促进花生叶片加厚,提高叶绿素含量,促进花芽分化,光合作用强度加强,植物积累干物质增多<sup>(1,2)</sup>,这显然与核酸的代谢是分不开的。核酸和蛋白质是促进细胞分化、生长、发育的主要物质,喷施 $B_0$ 能使花生增产,因此,可以推论,在一定时期 $B_0$ 促进DNA、RNA和蛋白质的生物合成是花生增产的物质基础和重要的条件之一。

## 参 考 文 献

- [1] 中国科学院华南植物研究所生理生化研究室激素组, 广东农业科学, 30 (1979), 73, 14—18.
- [2] 华南师范学院作物生理研究小组, 华南师范学院学报(自然科学版), 1979, 2, 1—10.
- [3] 刘振声、傅家瑞, 植物学报, 23 (1981), 2, 116—121.
- [4] 潘瑞炽等, 植物生理学报, 5 (1979), 1, 58—64.
- [5] Brittain, J A., 1967. Response of *Arachis hypogaea* L. to succinic acid 1. l-dimethyl hydrazide. Ph. D, Thesis. Virginia Polytechnic Institute Blacksburg (Diss. Abstr. 28: 3938 B).
- [6] Brown, R. H., Ethredge, W. J., King, J. W., *Crop Sci.*, 13(1973), 5, 507—510.
- [7] Galston, A., Kaur, R., *Science*, 138(1962), 903—904.
- [8] Gifford, Jr., E. M. Nitsch J. P., *Planta*, 85(1969), 1.
- [9] Jacobs, W. P., 1979, Plant hormones and plant development, P. 105—106, Cambridge University press, London, New York Melbourne.
- [10] Key, J. L., Shannon, J. C., *Plant Physiol.*, 39(1964), 360—364.
- [11] Key, J. L., *Plant Physiol.*, 39 (1964), 365—370.
- [12] Wynuc, J. C., Baker, W. R., Rice, P. W., *Agron. T.*, 66 (1974), 2, 192.