

植物生理学译丛

第九次国际植物生长物质会议报告选辑



上海科学技术文献出版社

植物生理学译丛

(第九次国际植物生长物质会议报告选辑)

中国科学院上海植物生理研究所

王天铎 编

*

上海科学技术文献出版社出版

(上海高安路六弄一号)

新华书店上海发行所发行

上海市印刷十二厂印刷

*

开本 787×1092 1/16 印张 5 字数 128,000

1980年7月第1版 1980年7月第1次印刷

印数 1—8,100

书号: 13192·10 定价: 0.65 元

《科技新书目》161-112

内 容 提 要

本书的前 10 篇译文是近年有关植物生长物质研究的一些具有代表性的论文,其中 9 篇原载于第九次国际植物生长物质会议论文集《植物生长调节》(«Plant Growth Regulation»)一书。而第 11 篇则对植物生理学的发展作了简要的回顾和瞻望。可供大专院校师生以及科研人员作为教课书和专著以外的补充参考资料。

目 录

细胞初生壁的分子结构和延长生长.....	P. Albersheim, M. McNeil, J. M. Labavitch	1
植物中离子传递激素控制的生理学含意.....	E. Marré	10
根生长的抑制物.....	R. L. Wain	18
整体植物中的细胞分裂素的相互关系.....		
.....	D. F. Wareing, R. Horgan, I.E. Hanson, W. Davis	22
根和地上部的向地性机制.....	M. B. Wilkins	28
细胞分裂周期的激素调节作用.....	C. Peaud-Lenool	35
激素对脱落的控制：生物化学和超微结构.....	F. T. Adicott, S. M. Wiatr	42
整体植物衰老中的激素关系.....	P. J. Davies, W. M. Probsting, T. J. Gianfagna	48
生长物质和原生质体.....	E. C. Cocking	54
细胞分裂素作用机制.....	W. J. Burrows	58
植物生理学：不断变换的问题，继续着的探索.....	F. C. Steward	66

细胞初生壁的分子结构和延长生长

P. Albersheim, M. McNeil, J. M. Labavitch

《Plant Growth Regulation》pp. 1~12, 1977(英文)

〔摘要〕简要地叙述了一个以前提出的细胞初生壁的分子模型，并介绍了支持这个模型的更近期的证据。还提出了支持这样一种假说的证据，这种假说是，所有双子叶植物的细胞初生壁是依据同一种结构方案，用相同的或功能上类似的多糖构成的，可能所有单子叶植物细胞壁的构成也是如此。概述了近来的一些目的在于检出延长生长期间的细胞壁生化变化的实验结果。我们的结论是，新合成的聚合物(polymers)嵌入细胞壁引起并决定了细胞的延长。

细胞初生壁——一个结构模型

正在生长的植物组织的细胞壁，即细胞初生壁能比它们原来的长度伸长很多倍。不再生长的细胞壁，即细胞次生壁，被修饰为不能再伸长的刚性结构。只有理解了 this 结构，我们才能解释生长中细胞壁的值值得注意的力学性质。我们曾研究了建成细胞壁的组成分子的性质，并提出了一个示出这些组成分子是如何配合在一起以形成一个具有所观察到的特性的细胞壁的模式(图1)^{3,15}。尽管这个模型还带有推测性质，但自提出以来它已得到了很多的支持。近三年来，我们试图将这模型延伸到悬浮培养的假挪威槭(*Acer pseudoplatanus*)细胞(模型是从这种细胞推衍出来的)以外的其它材料，并发展新的技术来改进这个模型，以期最终阐明细胞壁生长的化

学。应该强调，细胞壁分子的化学鉴别只能回答有关细胞壁生长的部分问题。我们必须知道纤维素纤维(cellulose fibers)之间的三维关系；现在正在通过超微结构研究来阐明这种关系。我们也必须了解细胞壁是如何合成的。

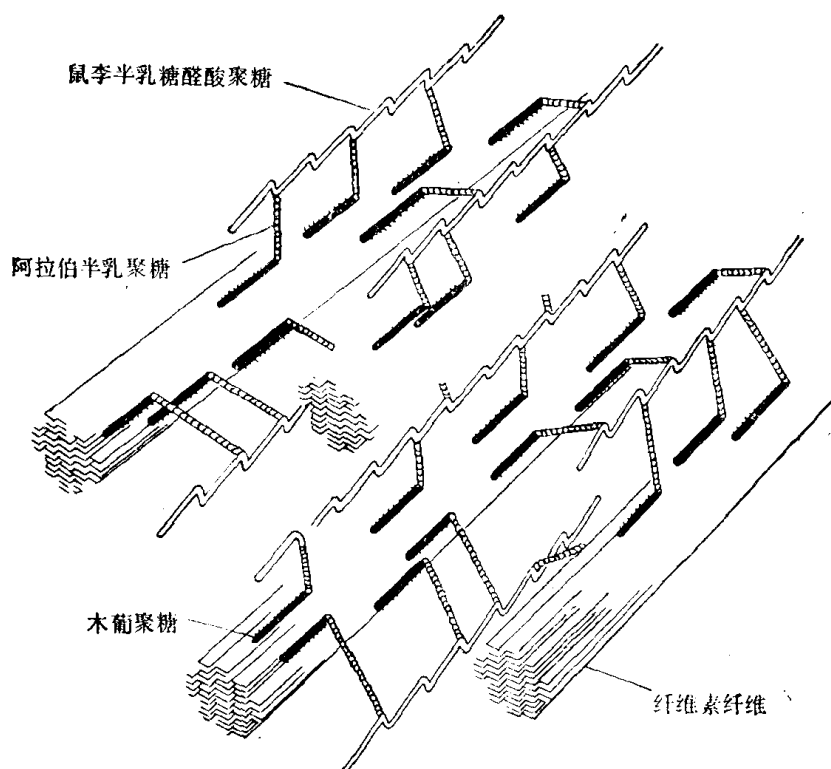


图1. 双子叶植物的细胞初生壁模型。

细胞初生壁有 90% 是多糖，而这正是我们一直在研究的部分。壁的其余 10% 是蛋白质；Lampert 等极广泛地研究了这种蛋白质^{20,21,22,23}。

在细胞初生壁的结构物质当中，认识和了解得最多的是纤维素。它完全由 β -1,4-葡聚糖链组成。葡聚糖链呈线状，在初生壁中它们聚合起来形成由大约四十个键组成的纤维。在纤维素纤维中，葡聚糖链是由氢键结合在一起的。这些键是由一个糖单位上的羟基的氢原子和另一个单位上的氧原子形成的。单独地来说，氢键是相当弱的，但是一个纤维素纤维的葡聚糖链之间有许多氢键。正是这些纤维素纤维主要决定了细胞壁

的强度。

在葡聚糖链之间的大量氢键使得纤维素纤维成为一个高度内聚性结构。当它受到化学作用而没有发生链间氢键专一性开裂时，葡萄糖单位之间的共价糖苷键常在链被分开前就断裂。即使是对葡聚糖链中的糖苷键专一的酶也难以降解结晶纤维素^{4,6,7,11,13,32,37}。由于这些链紧紧地聚集在一起， β -1,4-葡聚糖苷酶难于接近本来是易受影响的糖苷键。当然，纤维素最终能完全被酶水解。看来这个过程涉及了有待于鉴定的水解酶以外的一些酶类。查明纤维素分解代谢控制的机制是一个迷人的无比重要的研究领域，而关于它我们现在知道得很少。

纤维素纤维只占细胞初生壁的一部分。纤维是嵌在其它分子组成的衬质里的，而这些分子大多数也是多糖。在我们最仔细地考察过的细胞壁里，还有另外四种在数量上重要的多糖：木葡聚糖 (xyloglucan)，阿拉伯聚糖-半乳聚糖 (arabinan-galactan) 和鼠李半乳糖醛酸聚糖 (rhamnogalacturonan)。木葡聚糖组成细胞初生壁的经典半纤维素分部，而阿拉伯聚糖-半乳聚糖和鼠李半乳糖醛酸聚糖则组成细胞壁中经典的果胶分部。木葡聚糖、阿拉伯聚糖-半乳聚糖以及鼠李半乳糖醛酸聚糖的化学远较纤维素复杂。在纤维素中，所有的糖单位都是相同的，并且是以相同的方式互相结合着。上述这些多糖中则存在两种或更多种糖单位，而这些糖单位被几种糖苷键所连接。所幸在细胞壁分子中，我们只遇到了大约二十余种糖苷键。此外，在细胞初生壁中，复杂的多糖似乎是由重复的亚结构组成的。确定了亚结构是如何结合在一起的，就能描述整个分子了。

当用提纯的内聚糖酶 (endoglycanase) 降解细胞壁聚合物时，释放的寡糖中有一些含有不止一种多糖的碎片。这样的碎片表明，在细胞壁中，多糖 (除纤维素外) 彼此是共价地结合着的。这样的复合碎片使我们能测定多糖在细胞壁中连接的次序，并使我们得以瞥见细胞壁聚合物的几何学。正是根据这类资料，我们建立了假挪威槭细胞初生壁的化

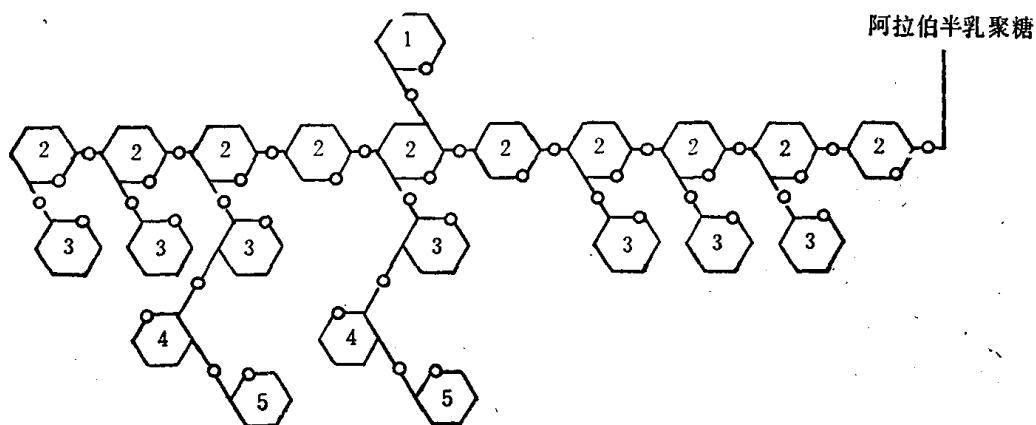


图 2. 部分木葡聚糖(双子叶植物的细胞初生壁的半纤维素)模型。
1. 阿拉伯糖; 2. 葡萄糖; 3. 木糖; 4. 半乳糖; 5. 岩藻糖

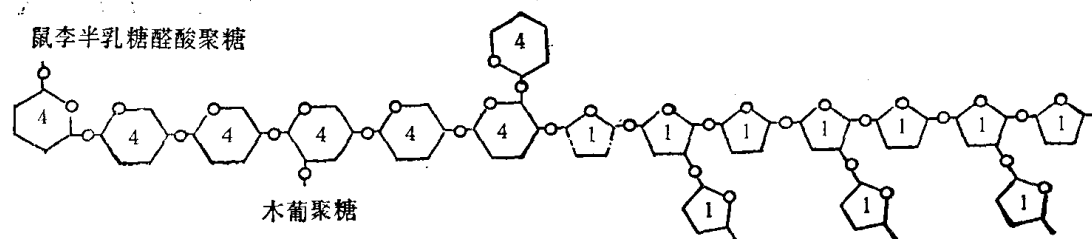


图 3. 阿拉伯聚糖-半乳聚糖(双子叶植物的细胞初生壁的中性果胶分部)的模型。

1. 阿拉伯糖; 4. 半乳糖

学结构的模型^{5, 15, 35}。

在我们的模型中, 每根纤维素纤维完全被一层一个分子厚的木葡聚糖包裹着。木葡聚糖的多重葡萄糖单位是沿纤维素纤维的轴线方向排列, 并是通过氢键与纤维素纤维的葡聚糖结合。因为木葡聚糖的葡聚糖主链在结构上与纤维素的葡聚糖链相同(图 2), 所以氢键键合是可能的。然而不象纤维素, 木葡聚糖只能在一侧形成氢键; 岩藻糖和半乳糖单位的突出阻挡了在相对一侧上的键合。

在它们的还原端, 许多木葡聚糖分子是糖苷式地与阿拉伯聚糖-半乳聚糖分子键合(图 1)。尽管确切的几何关系还不知道, 可以认为阿拉伯聚糖-半乳聚糖链(图 3)是从纤维素纤维向外辐射状地蔓延犹如从毂上伸出的辐一样。阿拉伯聚糖-半乳聚糖链的还原端糖是苷式地与鼠李半乳糖醛酸聚糖键合。据信阿拉伯聚糖-半乳聚糖仅与鼠李糖残基键合, 而鼠李糖使鼠李半乳糖醛酸聚糖链形成纽结(图 4)。每根纤维素纤维是由许多

木葡聚糖分子包裹起来的。木葡聚糖只与一个阿拉伯聚糖-半乳聚糖键合, 而每个鼠李半乳糖醛酸聚糖链上有一个阿拉伯聚糖-半乳聚糖末端。然而鼠李半乳糖醛酸聚糖链则接受几个阿拉伯聚糖-半乳聚糖分子, 包括从不止一根纤维素纤维辐射出来的链。鼠李半乳糖醛酸聚糖就这样束缚了纤维使之成为或多或少刚性的衬质(图 1)。

初生壁的一个蛋白质成份可能具有一个结构上的功能^{20, 21, 22, 23}。Lampert 等正在研究的细胞壁蛋白质富有羟基脯氨酸(一种在动物系统中为结构蛋白所特有的氨基酸)。富有羟基脯氨酸的蛋白质也有糖附着其上。这些性质提示, 这个细胞壁蛋白质有一个结构上的功能。在我们第一个细胞壁结构模型¹⁵的建议中, 我们指出, 可以拟定出一个细胞壁的完整模型, 这个模型既可包括也可不包括富有羟基脯氨酸的蛋白质。至今我们仍然能推导出一个不考虑这个蛋白质的细胞壁结构模型。这个蛋白质在细胞壁内的功能还

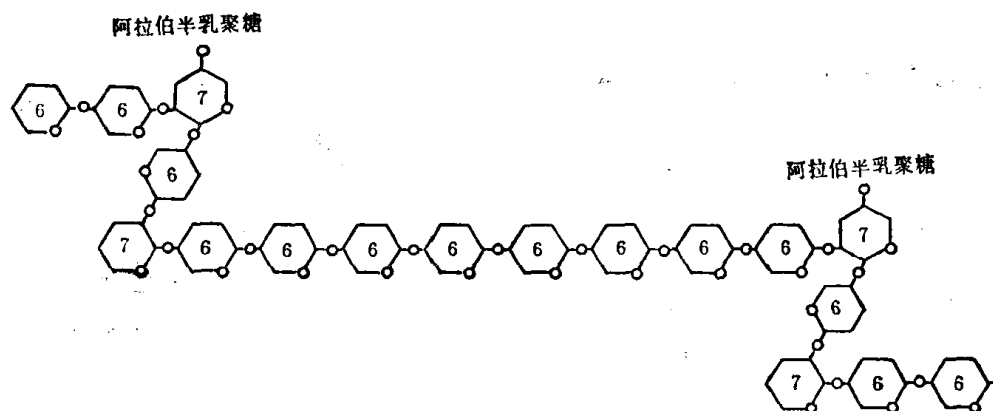


图 4. 部分鼠李半乳糖醛酸聚糖(双子叶植物细胞初生壁的酸性果胶分部)的模型。

6. 半乳糖醛酸; 7. 鼠李糖

有待于进一步的证据。

最近的有关细胞 初生壁结构的研究

我们现在的研究重点在于鉴定使纤维素纤维互相连接的多糖的详细结构。对包着纤维素纤维的木葡聚糖的结构已有很好的了解了。对起着一些纤维素纤维的附着焦点作用的鼠李半乳糖醛酸聚糖的结构也有相当了解。然而,关于连接着木葡聚糖和鼠李半乳糖醛酸聚糖的阿拉伯聚糖-半乳糖的结构则知道得较少。现在还不知道是阿拉伯聚糖附着在半乳糖上,还是半乳糖附着在阿拉伯聚糖上。现在还不知道木葡聚糖是通过什么键与什么糖结合来附着在阿拉伯聚糖-半乳糖上。我们也不知道阿拉伯聚糖-半乳糖是如何附着在鼠李半乳糖醛酸聚糖上的。

高度提纯的内聚糖酶对于细胞壁多糖的结构分析是必要的。到现在为止,最有用的酶是高度提纯的内聚半乳糖醛酸酶(endopolygalacturonase)^{10,35}和部分提纯的内葡聚糖酶(endoglucanase)⁵。后者需要进一步的提纯,其方法已有报告^{4,6,7,11,12,13,32,37}。

一直没有获得用于鉴定双子叶植物细胞壁中的阿拉伯聚糖-半乳糖的酶。为此目的,我们现在成功地提纯了一个内- β -1,4-半乳糖酶¹⁶。通过在大豆阿拉伯聚糖-半乳糖培养,野生型枯草杆菌以诱导产生这个酶。从培养液取出的酶被提纯200倍以上。用一个提纯程序产生了一个制备物,它在SDS盘状凝胶电泳中只有单一的克分子量为40,000的蛋白质带。在这个提纯程序中,亲和层析是最有效的一步。提纯的半聚糖酶分解大豆阿拉伯聚糖-半乳糖中的半乳糖部分以及从柑桔果胶中提纯的 β -1,4-半乳糖。提纯的半乳糖酶部分地分解从悬浮培养的假挪威槭细胞中分离出来的细胞壁。经研究的底物的酶降解产物主要是一个4-

位连接的四半乳糖苷。积累起来的证据强烈地提示,半乳糖酶既能以外部也能从内部作用于其底物。这种双重活力在聚糖酶上,就我们所知还从来没有被报告过。经提纯的由病原真菌 *Colletotrichum lindmuthia-num* 分泌的多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase)¹⁰曾被描述为一种内聚糖酶,但产物分析提示,这个酶也是既能起外聚糖酶的作用,也能起内聚糖酶的作用。可能这是细胞壁降解酶的一种普遍的性质。

枯草杆菌的半乳糖酶曾帮助说明大豆阿拉伯聚糖-半乳糖的结构。以前对阿拉伯聚糖-半乳糖结构的一项解释²⁹提示,这种多聚糖有一个1,4连接的半乳糖残基的主链,而在那个主链上,阿拉伯糖残基是作为单糖或二糖组份而存在的。用提纯了的半乳糖酶降解这项多聚物,接着部分地鉴定酶作用产物,却给出了不同情况。在半乳糖酶作用以后,聚合物中几乎所有的阿拉伯糖,但极少半乳糖,跑过了Bio-Gel P-2柱,表明了阿拉伯糖苷的聚合程度至少为10。由此可见,阿拉伯聚糖-半乳糖的阿拉伯聚糖部分主要组成相当大的寡阿拉伯糖苷或多阿拉伯糖苷。我们用其它双子叶植物的细胞壁阿拉伯聚糖-半乳糖进行研究时得到的结果也恰好如此。阿拉伯聚糖-半乳糖看来象是两个彼此附着的同聚物:一个分枝很多的阿拉伯聚糖和一个分枝很少的半乳糖(图3)。究竟是阿拉伯聚糖附着于半乳糖,抑或半乳糖附着于阿拉伯聚糖,则还不清楚。

在含有完整的阿拉伯聚糖-半乳糖,同时也含有附着于阿拉伯聚糖-半乳糖的木葡聚糖的小碎片以及阿拉伯聚糖-半乳糖附着其上的鼠李半乳糖醛酸聚糖的小碎片的一种细胞壁碎片的研究中,提纯的内半乳糖酶也是有用的。这个细胞壁碎片将被称为“连接碎片”。

连接碎片按下列方法得到:分离到的细胞壁用提纯的内多聚半乳糖醛酸酶处理,然

后洗去这个酶的可溶化产物。继之或者用二甲基亚砷或者用碱抽提细胞壁，以便打破木葡聚糖和纤维素纤维之间的氢键。这个抽提步骤使共价地附着在阿拉伯聚糖-半乳聚糖上的木葡聚糖和共价地附着于为内多聚半乳糖醛酸酶降解的鼠李半乳糖醛酸聚糖的小碎片上的阿拉伯聚糖-半乳聚糖变为可溶。通过一项两步法进一步提纯连接碎片，方法如下：利用残存的鼠李半乳糖醛酸聚糖的中糖醛残基的羟基进行键合，使碎片先附着于一个阴离子交换柱，用一个盐的梯度从阴离子交换柱上把连接碎片洗脱下来，然后通过结合到纤维素上去的办法进一步提纯。连接碎片上的木葡聚糖部分强烈地结合于纤维素上；然后用二甲基亚砷或用碱将碎片从纤维素上洗脱下来。当需要的时候，用内葡聚糖处理提纯的连接碎片以去掉大多数木葡聚糖，从而使它变小。

为了鉴定连接木葡聚糖碎片和阿拉伯聚糖-半乳聚糖以及阿拉伯聚糖-半乳聚糖和鼠李半乳糖醛酸聚糖碎片之间的键，我们用提纯的内半乳聚糖酶处理连接碎片¹⁶。这种半乳聚糖酶使连接碎片中近40%的半乳糖以小的寡糖形式释放出来，但是没有使连接碎片的鼠李半乳糖醛酸聚糖部分与木葡聚糖部分分离，从而证明没有暴露着的，连接木葡聚糖和鼠李半乳糖醛酸聚糖的4-位连接的半乳糖残基的相连区域。我们不能肯定，是否有一个短的或者空间上受阻的半乳聚糖参与了木葡聚糖和鼠李半乳糖醛酸聚糖的相互连接。用温和的酸水解细胞壁的多糖的实验结果提示，这个相互连接依靠或部分依靠半乳聚糖³⁵。为了解决这个问题，必须分离到使鼠李半乳糖醛酸聚糖与木葡聚糖分开的酶，否则必须大大降低连接碎片的大小。最有可能提供这种解决办法的酶是一种内阿拉伯聚糖酶。我们曾从一种核盘霉菌中部分地提纯了一种内阿拉伯聚糖酶。我们将或者继续提纯这个酶，或者尝试提纯由枯草杆菌产

生的内阿拉伯聚糖酶，它的提纯最近已有报告¹⁴。

我们的结构模型能广泛地 应用于其它细胞壁的证据

我们的结构模型完全是从以悬浮培养的假挪威槭细胞进行的实验中得到的，但是现在看来，它对其它细胞也有效。我们第一个可靠的证据来自菜豆和假挪威槭的半纤维素的比较³⁸。细胞的红菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 悬浮培养的壁有一个异常类似于假挪威槭细胞所具有的那种半纤维素(木葡酶糖)。这些聚合物的相似性被它们对同一个水解酶(一种内葡聚糖酶)的敏感性以及酶对两者的水解作用产生了几乎相同的寡糖碎片混合物等情况所加以证明。这个相似性的更好证明，是从这两种植物中的木葡聚糖制备的部分甲基化醛糖醇醋酸盐 (partially methylated alditol acetates) 的比较结果。

不仅菜豆和假挪威槭的木葡聚糖几乎相同，而且这些木葡聚糖在细胞壁上附着的方式也是相同的。应用化学的、酶的和液相层析等方法以从菜豆和假挪威槭的细胞壁中得到的木葡聚糖和木葡聚糖碎片即证实了上述情况^{5,38}。

文献调查提供了支持这种论点所有双子叶植物细胞的初生壁是类似的进一步证明。尽管早期的细胞壁分析一般采用以化学的而不是以酶的方法获得的细胞壁分部来进行，但从各种植物和植物组织中获得早期资料很好地符合我们所提出的结构模型¹⁵的情况给人以深刻的印象。

从假挪威槭、菜豆以及多种植物的细胞壁中制备的部分甲基化醛糖醇醋酸盐的比较，进一步证明了有一个适用于初生壁的普遍模型。Bauer 从培养的番茄细胞的壁合成了这些衍生物；Fisher 用悬浮培养的大豆细胞的壁制备了这些衍生物；而 Nusbaum 则既从悬浮培养的红菜豆细胞又从8天龄的红

菜豆子叶中了解到这种情况。从这些不同植物中得到的部分甲基化醛糖醇醋酸盐的气相层析谱极为相似。显然,所有的细胞壁都是以相同方式连接的相同的糖类组成的。定量分析表明,细胞壁中的不同的糖苷键的比略有差异,但是所有的细胞壁的主要组份是相同的²。这些资料提示,所有这些细胞壁都是由相似的聚合物组成的。这个情况和这样的事实,即各种植物的细胞壁以相同的方式为降解假挪威槭的细胞壁的同样的酶类所降解,而这种酶的降解产生了相似的层析分部,都使我们确信,象豆类、番茄和假挪威槭这些大不一样的植物,其悬浮培养细胞具有结构上很相似的壁。

红菜豆子叶的细胞壁中含有类似于从悬浮培养的菜豆细胞中的那种部分甲基化醛糖醇醋酸盐,从而证明,悬浮培养细胞的壁代表了完整植物中的初生壁。显然,按曾成功地使初生壁的多糖合成部分甲基化醛糖醇醋酸盐的方式处理初生壁时,次生壁的多糖产生的这类衍生物较少。Darvill 和 Hall 以及本作者对豌豆的胚轴细胞壁进行的研究证实了上述发现。Northcote 报告,从假挪威槭切下的形成层的细胞壁中糖的组成的分析表明,与我们报告的悬浮培养的假挪威槭细胞的情况几无差异。Timell 和 Simpson 曾经研究了从白杨树茎上取下的形成层细胞的细胞壁,结果发现其聚合物非常类似于从悬浮培养的假挪威槭细胞中所得到的聚合物。我们从而得出结论,生长在悬浮培养中的假挪威槭的细胞的胞壁的模式可作为其它悬浮培养的细胞胞壁的模式,而且也是完整植物中的细胞初生壁的有效模型。

Burke, Kaufman, McNeil 和我比较了六种不同的悬浮培养的禾本科植物的细胞壁⁸,以便决定悬浮培养的单子叶植物的细胞壁在结构上是否能和双子叶植物的细胞壁相比。我们比较了从这些不同禾本科植物的细胞壁中获得的部分甲基化醛糖醇醋酸盐的指数图

式,结果发现这些壁的葡萄糖基键非常相似。有趣的是,虽然小麦和水稻的培养取自根组织,燕麦和雀麦的培养取自胚组织,甘蔗的培养取自节间组织,而黑麦草的培养取自胚乳组织,但所有这些组织培养的细胞壁都是非常相象的。然而,只有取自胚乳组织的细胞有相当大数量表现出 β -1,3-葡聚糖特点的部分甲基化醛糖醇醋酸盐。我们认为 β -1,3-葡聚糖是一种存在于胚乳细胞壁内的贮藏多糖,而不是胚乳细胞壁的结构成份。这个结论被我们以下的发现进一步证实:大麦糊粉细胞壁也完全缺乏 3-位连接的葡萄糖残基²⁷,而燕麦节间的细胞壁只有少于 1% 的 3-位连接的葡聚糖,同时这个葡聚糖不随生长而消失。这些是与 Nevins 等的发现^{24,25,26,30,31}直接对立的。这些研究者提出设想,吲哚-3-乙酸(以下简称 IAA——译者)引起了非纤维葡聚糖壁多糖中的葡萄糖含量下降,而这种下降与 IAA 诱导的对生长的刺激有关。我们的发现提示,Neivins 等所看到的是一种贮藏多糖的丧失,而这种贮藏多糖与壁的生长的关系是次级的。在他们的提纯步骤中,显然有一种贮藏多糖存在于细胞壁内。这也不足为奇,因为在双子叶植物的细胞壁中曾清楚地证明淀粉会污染提纯的细胞壁。这种淀粉能够用淀粉酶除去而不改变胞壁的结构³⁵。确实,作者和 Kaufman 的初步结果证明,在燕麦属幼苗节间生长过程中,细胞壁的组成或结构没有重大的变化。

在不同的悬浮培养的禾本科植物的细胞胞壁中,不同的糖衍生物的比例是不相同的,但是所有的细胞壁都建立在以相同方式连接的同一些糖类。把我们的证据和其它研究单子叶植物的细胞壁的实验室的结果结合起来,就指出,单子叶植物的初生壁结构彼此相似,正如在双子叶植物的初生壁中看到的那样。从这些禾本科植物的细胞中得到的部分甲基化醛糖醇醋酸盐的样式与从悬浮培养的双子叶植物中得到的非常不同,但是现有

的证据强烈地提示，单子叶植物的细胞初生壁的结构模式类似于双子叶植物，并含有通过半纤维素和果胶聚合物相互连结的纤维素纤维。单子叶植物的细胞初生壁中的主要半纤维素（阿拉伯糖木聚糖——arabinoxylan）不同于双子叶植物中的半纤维素（木葡聚糖），但是无论是单子叶植物还是双子叶植物都含有通过氢键与纤维素结合的半纤维素作为细胞初生壁的主要成份^{5,27}；单子叶植物和双子叶植物还都含有果胶聚合物^{8,35}。

伴随着细胞壁延长的化学变化

快速生长的一个可能后果是纤维素纤维之间有些相互连接被破坏。在一系列用豌豆茎切段的细胞壁的抽提液进行的精细安排的实验中，我们测定了通过阿拉伯聚糖-半乳聚糖附着在鼠李半乳糖醛酸聚糖上的木葡聚糖链的百分比。换句话说，我们探究了这样的问题，即可用二甲基亚砷抽提的连接碎片中有多少是完整的？我们在生长素处理的三组快速延长的豌豆茎的切段中发现，大约80%的木葡聚糖链是与鼠李半乳糖醛酸聚糖链连接的，而在三组生长慢的对照切段中，大约也有80%的木葡聚糖链是连接到鼠李半乳糖醛酸聚糖上的。虽然这个实验必须重复，但这些结论提示，在生长着的和非生长着的细胞初生壁中的纤维素纤维之间，相互连接的数目没有可测量出来的差异。

为了测定发生在生长着的细胞壁上的变化（假如有这种变化的话），Kaufman等发展了一种卓越的检验系统。他们在生理水平上描述了燕麦茎切段的给人深刻印象的激素控制的节间延长。当这样的切段在有赤霉素和蔗糖情况下保温时，于两天内细胞延长到它们原来长度的100倍^{1,28}。我们正在与Kaufman合作，以检查燕麦节间的细胞壁在延长过程中的各个时间的组成和结构。我们的最初发现提示，迅速生长与生长缓慢的细胞壁

没有重大的差异（表1）。我们对不同延长阶段的燕麦节间的细胞壁的糖苷键成份进行的最初的详细研究也指出，这些键之间没有可得出的差异。假如这些结果被证实，那我们就清楚地确立，细胞壁中的这种被破坏以允许细胞壁扩大的键，在生长期必是按与细胞壁伸长以前的这些键的状态难以区别的形式被重建的。这些是重要的实验，因为，正象Burström在一封给我的信中所说的那样：“除了细胞壁物质的合成以及它参入（到壁中去）以外，不需要别的东西以解释细胞的膨大”。

表 1. 有赤霉素和无赤霉素情况下各生长阶段的燕麦节间细胞壁成分

生长(小时)	0	12		24		48	
激 素		-GA	+GA	-GA	+GA	-GA	+GA
生长(厘米)	1.0	1.1	1.6	1.3	2.7	1.5	5.9
鼠李糖*	2.3	2.3	2.2	2.0	1.5	1.3	1.1
岩藻糖*	0.5	0.6	0.5	0.4	0.5	0.3	0.2
阿拉伯糖*	27.8	27.8	28.3	28.5	28.0	28.3	25.2
木 糖*	55.4	54.1	53.2	55.9	57.3	57.0	59.8
甘露糖*	1.4	1.6	1.4	0.9	0.7	0.6	0.7
半乳糖*	5.5	5.7	5.8	5.1	5.0	5.1	5.8
葡萄糖*	7.7	7.8	8.2	7.4	7.2	7.2	7.3
纤维素**	58	54	62	60	65	44	52
糖醛酸类**	9	7	9	9	8	8	7
蛋白质类**	7	7	8	8	7	10	10

* 按总中性糖的%计算

** 按占细胞壁的%计算

延长生长的激素刺激曾被说成是细胞壁的暂时变弱或松弛的结果⁹。然而，在延长生长期，胞壁中在任何时刻只有少数键被破坏。但是由于细胞壁的生长贯串在它的整个长度、新的物质嵌入到胞壁的整体结构³³以及在生长期胞壁的成分或连接样式没有明显的变化，许多键必定被破坏而又被重新形成。当首次提出这项细胞壁模型时，我们提出设想，可能被断裂的键是木葡聚糖与纤维素纤维之间的氢键¹⁵，但是我们更近的证据提示，这是不可几的³⁶。我们相信细胞壁生

长是酶促的⁹。要寻找这样一种酶或者一些酶, 必须了解这些酶的底物, 并分离这些底物以便测定这些酶。

我们还在试图鉴定在延长生长期间键被破坏和重新合成的细胞壁中的专一聚合物。我们的努力是部分地建立在Labavitch和Ray的观察^{18,19}的基础上。他们指出, 在生长素刺激豌豆茎组织的延长的同时, 富含葡萄糖和木糖的细胞壁多糖转化成水溶形式的速率加快。我们证实¹⁷, Labavitch和Ray所研究的多糖是初生壁木葡聚糖, 其结构相似于对悬浮培养细胞的木葡聚糖所描述的结构^{5,38}。这些发现对于弄清在细胞延长时细胞壁中的哪些键被破坏和重新合成提供了启示, 因为我们发现生长素提高了附着于阿拉伯聚糖-半乳聚糖碎片上的细胞壁木葡聚糖被转化为一种水溶形式的速率(表2)。所以有这样的可能性, 即生长素处理促进了阿拉伯聚糖-半乳聚糖的开裂, 而生长可能涉及到新的胞壁物质向裂开的交叉连接的阿拉伯聚糖-半乳聚糖的嵌入。

表 2. 经50mM葡萄糖±17μM IAA处理7小时的¹⁴C标记豌豆茎组织中纤维素粉末提纯的水溶性豌豆木葡聚糖的混合糖放射性标记

糖	在各个糖中测定的总放射性 强 度		比 例 +IAA/-IAA
	+IAA	-IAA	
	cpm		
半乳糖	2,650	1,600	1.66
葡萄糖	13,450	8,300	1.62
木 糖	6,100	3,800	1.61

不管新的胞壁物质在哪里被嵌入, 连接纤维素纤维的多糖结构对于获得对延长生长的理解是极端重要的。为了允许纤维素纤维相互错过而移动, 这些聚合物必须被裂开。对这个过程的进一步了解要求: 涉及的多糖的糖苷顺序得到鉴定, 聚合物连接在一起的方式得到确定以及分离到足够数量的连接碎片, 以使用这些多糖作为底物以测定能够裂

开这个碎片或者能将另外的多糖嵌入到断片中去的酶。

参 考 文 献

[1] Adams, P. A., Kaufman, P. A., Ikuma, H.: Plant Physiol. 51, 1102 (1973)
[2] Albersheim, P.: Tissue Culture and Plant Science 1974. H. E. Street, (ed.). London, New York: Academic Press, 1974, pp. 379
[3] Albersheim, P.: Sci. Am. 232, 80 (1975)
[4] Almin, K. E., Eriksson, K. E., Pettersson, B.: Europ. J. Biochem. 51, 207 (1975)
[5] Bauer, W. D., Talmadge, K. W., Keegstra, K., Albersheim, P.: Plant Physiol. 51, 174 (1973)
[6] Berghem, L. E. R., Pettersson, L. G.: Europ. J. Biochem. 37, 21 (1973)
[7] Berghem, L. E. R., Pettersson, L. G., Axio-Fredriksson, U. B.: Europ. J. Biochem. 53, 55 (1975)
[8] Burke, D., Kaufman, P., McNeil, M., Albersheim, P.: Plant Physiol. 54, 109 (1974)
[9] Cleland, R.: Ann. Rev. Plant Physiol. 22, 197 (1971)
[10] English, P. D., Maglothlin, A., Keegstra, K., Albersheim, P.: Plant Physiol. 49, 293 (1972)
[11] Eriksson, K.-Er, Pettersson, B.: Europ. J. Biochem. 51, 193 (1975)
[12] Eriksson, K.-E., Pettersson, B.: Europ. J. Biochem. 51, 213 (1975)
[13] Eriksson, K.-E., Pettersson, B., Westermark, U.: FEBS Lett. 49, 282 (1974)
[14] Kaji, A., Saheki, T.: Biochim. Biophys. Acta 410, 354 (1975)
[15] Keegstra, K., Talmadge, K. W., Bauer, W. D., Albersheim, P.: Plant Physiol. 51, 188 (1973)
[16] Labavitch, J., Freeman, L., Albersheim, P.: J. Biol. Chem. 251, 5904 (1976)
[17] Labavitch, J. M., McNeil, M., Albersheim, P.: unpublished results
[18] Labavitch, J. M., Ray, P. M.: Plant Physiol. 53, 669 (1974)
[19] Labavitch, J. M., Ray, P. M.: Plant Physiol. 54, 499 (1974)
[20] Lamport, D. T. A.: Biochemistry 8, 1155 (1969)
[21] Lamport, D. T. A.: Ann. Rev. Plant Physiol. 21, 235 (1970)
[22] Lamport, D. T. A.: Colloques Internationaux C. N. R. S. 212, 27
[23] Lamport, D. T. A., Katona, L., Roerig, S.: Biochem. J. 133, 125 (1973)
[24] Leoscher, W., Nevins, D. J.: Plant Physiol. 50, 556 (1972)

- [25] Leoscher, W. H., Nevins, D. J.: *Plant Physiol.* **52**, 248 (1973)
- [26] Leoscher, W., Nevins, D. J.: *Mech. Reg. Plant Growth* **12**, 729 (1974)
- [27] McNeil, M., Albersheim, P., Taiz, L., Jones, R. L.: *Plant Physiol.* **55**, 64 (1975)
- [28] Montague, M. J., Ikuma, H., Kaufman, P. B.: *Plant Physiol.* **51**, 1026 (1973)
- [29] Morita, M.: *Agr. Biol. Chem. (Tokyo)* **29**, 626 (1965)
- [30] Nevins, D. J.: *Plant Cell Physiol. (Tokyo)* **16**, 495 (1975)
- [31] Nevins, D. J., Loescher, W.: *Plant Growth Substances* 828 (1973). *Proc. 8th Intern. Conf. Plant Growth Substances. Tokyo* (1974)
- [32] Pettersson, G.: *Arch. Biochem. Biophys.* **130**, 286 (1969)
- [33] Ray, P. M.: *J. Cell Biol.* **35**, 659 (1967)
- [34] Roland, J. C., Vian, B., Reis, D.: *J. Cell Sci.* **19**, 239 (1975)
- [35] Talmadge, K. W., Keegstra, K., Bauer, W. D., Albersheim, P.: *Plant Physiol.* **51**, 158 (1973)
- [36] Valent, B. S., Albersheim, P.: *Plant Physiol.* **54**, 105 (1974)
- [37] Westermark, U., Eriksson, K.-E.: *Acta Chem. Scand.* **29**, 419 (1975)
- [38] Wilder, B. M., Albersheim, P.: *Plant Physiol.* **51**, 889 (1973)

(陈梓卿译)

植物中离子传递激素控制的生理学含意

E. Marré

《Plant Growth Regulation》pp. 54~66, 1977(英文)

(摘要)壳梭霉素(fusicoccin, 以下简称FC——译者)显著地增加若干种植物组织的质子分泌和 K^+ 吸收。本文中提及的有关这种作用机制的证据表明, FC直接激活在细胞膜水平上的腺苷三磷酸酶(以下简称ATP酶——译者), 这个酶促进了生成电子的 H^+ 与单价阳离子(其中 K^+ 优先)的交换作用。FC的大多数生理和生化效应(促进细胞膨大, 种子萌发, 气孔开放, 增加 CO_2 的固定以及苹果酸和丙酮酸水平)可以解释为FC对 H^+/K^+ 交换系统原初活化的后果。迄今为止, 在几乎所有研究过的高等植物的材料里, FC曾诱导出本质上相类似的反应的这一发现, 示出了FC敏感系统的普遍存在并由此提示其基本生理作用。

FC敏感系统的激活或抑制, 似乎在天然激素引起的各种重要生理效应中起中介作用, 例如吲哚乙酸(以下简称IAA——译者)及细胞分裂素诱导的对细胞膨大的刺激作用, 脱落酸(以下简称ABA——译者)诱导的对气孔张开和种子萌发的抑制作用, 以及可能还包括 GA_3 诱导的种子萌发的某些方面。其它的一些激素调节过程, 尤其是那些涉及专一的蛋白质合成的过程, 看来与 H^+/K^+ 交换速率的调节作用没有关系。

引 言

近年来, 在了解植物激素的作用机制方面获得了重大进展。尤其是日积月累的证据表明, 生长素在细胞膜水平上影响依靠能量的质子传递的能力, 在生长素诱导的细胞膨大中起主要作用^{13, 14, 20, 32, 41, 46}。在另一方面, 对生长素(及其它生长促进物质)的这种效应的研究表明, K^+ 及其它离子流动和膜电位差(transmembrane electric potential, 以下简称PD——译者)^{9, 11, 32, 37}的重要变化都与激素诱导的 H^+ 传递的变化有密切的联系。

因此, 看来激素能够调节某些基本的膜活动, 问题是激素生理效应中有多少种与膜水平上的变化有因果关系。为了理解激素作用, 首先必须认识激素对象原生质膜、液胞

膜、内质网和高尔基体膜等结构的作用机制。此外, 通过激素处理影响离子传递的可能性打开了在研究膜功能方面的新的有兴趣的前景。

本文对有关下述结论的证据进行讨论。

(1) FC大大地促进了若干高等植物组织中的生成电子的 H^+/K^+ 交换, 并在各种重要生理反应中有效地模拟了天然激素。目前迅速增多的有关FC的作用机制的知识, 有助于更为复杂的激素作用模型的研究。

(2) 在某些情况下, 生长素和细胞分裂素对细胞的膨大作用, 可方便地被解释成由于FC敏感的 H^+/K^+ 交换系统的激活作用。ABA对气孔张开及种子萌发的抑制作用, 和赤霉素的打破种子休眠效应的某些方面也可能是由于这种作用。

(3) 就生长素以及其它激素而言, 只有

有限数量的特殊生理反应似乎是通过离子传递的变化来进行的。其它一些重要反应,尤其是涉及蛋白质合成和分化的那些反应,表现出是由于 H^+/K^+ 交换作用以外的其它效应。这一情况提示天然激素主要与不同于 FC 的专一受体相互作用,并是通过相当复杂的,有支路的一系列中间步骤达到离子传递系统的。

材 料 与 方 法

在以下各节中提及的植物材料的处理和使用的生理生化操作,程序在以前的报告^{2,9,16,19,26,29,32}已做了详细描述。

结 果 与 讨 论

FC 的生理效应与作用机制

这一节的目的是:(1)总结 FC 对细胞膨大、溶质传递、气孔张开、种子萌发和代谢等的效应的特点;(2)介绍一些有关 FC 专一性地与细胞膜制备物结合和在体外激活与原生质膜结合的依赖于 K^+-Mg^{++} 的 ATP 酶的能力的最新证据;(3)提出一个有关 FC 作用机制的暂定模型。

对细胞膨大、单价阳离子吸收和 PD 的效应 已经证明 FC 在茎和芽鞘^{5,30,32,36}以及对 IAA 不敏感组织,例如根^{16,32,36}、离体子叶²⁸、种子的胚^{17,18}和叶片²⁸等中促进了细胞的膨大;就是说,几乎所有的植物组织,在它们的细胞壁结构尚未机械地阻碍膨大生长时,显然 FC 对它们都有作用。在所研究过的例子中,这种效应看来与降低保温介质 pH 的能力和 K^+ 吸收速率的增加有联系^{7,9,32,41,46}。在培养液的盐浓度高时,FC 也刺激了其它单价阳离子 (Rb^+ , Na^+ , Cs^+) 的吸收。在培养液盐浓度低时,FC 对 K^+ 吸收的效应远大于对 Na^+ 或其它阳离子吸收的效应,由此可见,FC 独特地增加了对 K^+ 的选择

性^{9,69,26}。培养液中的 K^+ 显著地增加 FC 诱导的质子分泌作用,其它单阳离子则在较小的程度上起作用。这种效应大体上与阳离子的吸收速率成比例^{9,10},并按 $K^+ > Rb^+ > Na^+ = Li^+ = Cs^+$ 的顺序递减。

在所有研究过的材料(茎、芽鞘、根系、离体子叶、发芽种子的胚)中,FC 诱导的 H^+ 分泌及 K^+ 吸收的刺激作用,是伴随着 PD 的增加^{9,29,37}。

FC 对细胞膨大的效应及与之有关的 H^+ 分泌、 K^+ 吸收和 PD 的增加都被呼吸和磷酸化作用抑制剂(CO, DNP, CCCP, FCCP, DCCP)^{9,29,31}、低温⁹和无氧状态显著地抑制,这就表明 FC 对上述过程的作用决定于某种依靠代谢的机制。环己酰亚胺及嘌呤霉素,即使在高到足以完全阻止蛋白质合成的浓度,也只部分地抑制 FC 对生长和离子传递的效应。这一情况提示,蛋白质合成虽然对细胞膜的充分行使功能是必需的,然而并不直接参与 FC 对离子传递的作用机制(参阅 1 和 10 节及图 2)。

FC 对离子传递和 PD 的效应及它对细胞膨大的效应之间的关系 当细胞膨大受阻于壁结构(例如在豌豆苗中已充分生长的第一节间里)或可以诱导接近质壁分离值这样高的细胞外渗透压的甘露醇浓度时^{8,9,16,30,31},FC 就不显著地增加细胞膨大。然而,即使在这些情况下,FC 对 H^+/K^+ 的交换及 PD 的效应仍保持不变,因此表明,FC 刺激生长的那些材料,当以低 pH 缓冲液处理时,也有增加细胞膨大的反应。在低 pH 培养液中,FC 对生长的绝对效应显著降低;就是说,FC 和酸处理的效应只是部分地加成性的。这就提示,FC 诱导的质子分泌作用,在决定细胞壁的松弛从而决定细胞膨大方面,至少是一个重要因素。

FC 对其它溶质的传递的效应 我们近来的工作表明,FC 无例外地在茎、芽鞘、根系切段中刺激了多种溶质的吸收,例如对

Cl^- 、 SO_4^{2-} 、琥珀酸、亮氨酸、氨基异丁酸、葡萄糖和 3-甲基-0-葡萄糖的吸收。然而对尿素、硫脲及氟化的水没有察觉出有意义的效应。

大致说来,现有的证据提示,FC 对被动的非载体中介的传递不起作用,然而它在某种程度上影响多种载体中介的依靠代谢能的传递过程。

FC 对气孔张开的效应 FC 通过增加保卫细胞的膨压而诱导气孔开放,而且它逆转 ABA 对这个过程的抑制作用。这种效应是与 K^+ 的吸收^{43,45} 和 H^+ 的分泌能力的显著增加相联系的,可能前者取决于后者。近来的证据指出,气孔的生理性张开是由于 K^+ 的吸收增加,而这种增加是与 H^+ 的分泌偶联的³⁸。因此,设想 FC 诱导的气孔张开也依赖于对在细胞膜水平上的 H^+/K^+ 交换的刺激作用,看来是合乎情理的。

种子萌发 FC 不论是对正常休眠的还是对经过远红光或 ABA 处理而造成休眠的种子都有显著的诱导萌发的作用。伴随着 FC 对种子休眠的解除作用是出现非常早的质子分泌¹⁸ 和 K^+ 的吸收的增加以及 PD 的过极化作用(hyperpolarization)。这些结果的一种合理解释是 FC 最初激活了 H^+/K^+ 交换系统,因而刺激了水份吸收和细胞膨大,由此打破了休眠种子的静态平衡并触发了一系列种子萌发特有的生物合成过程。

FC 的代谢效应 在豌豆节间切段(这是在这方面研究得最透彻的材料),FC 显著地增加了呼吸作用,压低 ^{14}C -葡萄糖的 C_1 异化为 CO_2 的速率与 C_6 的异化速率之比 (C_1/C_6 比率)^{27,32}。FC 的其它重要效应,是增加暗中 CO_2 固定进入苹果酸的速度以及大量提高丙酮酸水平^{27,32}。正如以下将讨论的,所有这些变化至少能试探性地解释为 H^+/K^+ 交换机制激活的结果。

FC 效应的动力学 FC 对 H^+ 和 K^+ 的传递、PD 和生长的效应极为迅速^{7,9,16,32}。

就 H^+ 分泌和 PD 的过极化作用而言,没有观察到滞后期,而反应在 7 分钟内即达到最大强度^{9,32}。

这表明在 FC 对它的原初受体的相互作用及其对 H^+/K^+ 交换系统的最终影响之间的中间步骤不多。

FC 与富含原生质膜的膜制剂的结合 我们实验室的 Pesci 等与在 Freiburg 的 Dohrmann 和 Hertel 协同获得的最近研究结果指出,FC 与存在于用玉米芽鞘制备的富含原生质膜的膜制剂中的某种成分专一地结合。FC 的这种专一性结合曲线与萘基苯二甲酸酰胺(naphthylphthalamic acid) 的相一致,而后者被认为是原生质膜的良好标记物^{15,35}。FC 专一性结合的饱和浓度出现在 $10^{-6} \sim 10^{-4}\text{M}$ 范围,因此与体内 FC 对 H^+/K^+ 交换的效应的饱和浓度一致。

FC 对原生质膜制剂的 $\text{K}^+/\text{Mg}^{++}$ 激活的 ATP 酶的刺激效应 我们实验室的最近研究表明,FC 能够使体外的玉米芽鞘及菠菜叶片的富含原生质膜制剂的依靠 K^+ , Mg^{++} 的 ATP 酶活力提高 20~40%。FC 的生理上失活的派生物,例如 DAK,不能诱导出这种体外反应。FC 诱导的膜制剂中的 ATP 酶激活作用的浓度-活性曲线与 FC 对体内 K^+ 的吸收和 H^+ 的分泌的效应曲线² 极为一致。

这项结果的意义由于提示 K^+ 和 Mg^{++} 激活的原生质膜结合的 ATP 酶参与了植物中的 K^+ 吸收的证据而更加突出。

FC 的作用机制 FC 作用机制的一个模型曾在以前的一篇文章²⁶ 中提出过。图 1 描述的这个模型看来适用于大多数已知的 FC 的生物化学和生理学效应。根据此模型,这种植物毒素将直接激活促使生成电子的 H^+/K^+ 反向传递的与原生质膜结合的 ATP 酶。随后发生的细胞质的碱化将为以下两个机制的同时运转所中和:(1) 细胞内的 OH^- (或 HCO_3^-) 与阴离子(Cl^-) 的交换,或细胞外的阴离子与 H^+ 一起同向传入细胞;(2) 有机酸

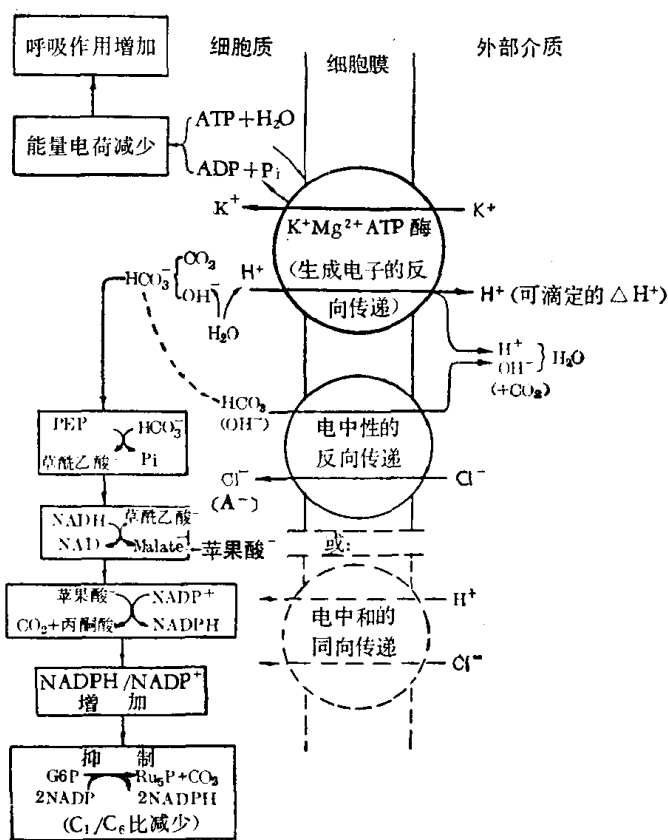


图 1. 提出的 FC 对离子传递的作用机制的模型。

根据这个模型, ATP 酶促进的 H^+/K^+ 交换的化学计算值接近 1, 但是部分分泌的质子将与 Cl^- 一同再进入细胞或者和与 Cl^- 交换的 OH^- 结合

例如苹果酸的合成的增加, 这与 Davies¹⁰和 Raven 及 Smith³⁹ 提出的恒 pH 器理论一致。丙酮酸的增加及 G-6-P 氧化途径的抑制都取决于苹果酸的增加, 这可能是通过异构效应协调的。FC 对各种由载体中介的过程的刺激作用将依赖于 H^+/K^+ 交换的活化的次生效应, 例如 H^+ 梯度的形成以及细胞内和细胞外的代谢物和离子分布的其它变化。

如图 2 所示, 实际上所有已知的 FC 的生理效应都可用这个模型来解释。

天然激素对离子传递的效应: 与 FC 的效应的相同处和不同处

本节讨论的主要点, 是生长素、细胞分裂素、ABA 和赤霉素对离子传递和与之有联系的生理反应的效应是不是依赖于它们以某种方式影响 FC 敏感的 H^+/K^+ 交换机制的能力。

生长素 当我们把 FC 的效应与 IAA 或其它生长素的效应比较时, 可以发现显著的相同点和明显的不同处。

表 1. IAA 及 FC 在豌豆节间切段中的效应的相同点

	对 照	IAA	FC
细胞的膨大	5	15	28
Q_{O_2}	180	225	280
C_1/C_6 比率	0.99	0.93	0.73
葡萄糖-6-P	0.53	0.59	0.68
丙酮酸	0.060	0.088	0.350
暗中 CO_2 固定	27.5	33.0	43.6
K^+ 吸收 (1 毫克分子)	0.48	0.96	2.20
Na^+ 吸收 (1 毫克分子)	0.13	0.16	0.26
K^+/Na^+ 吸收比率	3.7	6.0	8.5
Cl^- 吸收 (10 毫克分子)	1.7	2.6	3.9
SO_4^{2-} 吸收 (5 毫克分子)	0.59	0.67	1.31
可滴定的 H^+ 分泌 (1 毫克分子)	0.16	0.40	0.89
10 毫克分子激活的 H^+ 分泌	+187%	+273%	+317%
10 毫克分子激活的 H^+ 分泌	+37%	+67%	+60%
3-O-甲基葡萄糖吸收 (5 毫克分子)	0.37	0.44	0.51
α -氨基异丁酸吸收 (5 毫克分子)	0.16	0.19	0.24
膜电位差	-60	-77	-83

细胞膨大按 2 小时内鲜重增加的 % 计算。 Q_{O_2} 按每克鲜重每小时的氧吸收 (微升) 计算。葡萄糖、-P 及丙酮酸为经 2 小时处理后的每克鲜重的微克分子数。 CO_2 固定为 30 分钟内每克鲜重每小时 CO_2 渗入酸溶性部分的毫微克分子数。 H^+ 分泌, 离子、3-O-葡萄糖和 α -氨基异丁酸的吸收 (微克当量), 按每小时每克组织计算。膜电位差单位为毫伏

如图 1 所示, 相同点有: (1) 刺激细胞的膨大; (2) H^+ 、 K^+ 与一般地说离子的传递的刺激的所有方面和有密切关系的 PD 的过极化作用; (3) 对依靠能量、由载体中介的葡萄糖及 α -氨基异丁酸吸收的效应; (4) 许多可能依靠 H^+/K^+ 交换激活的代谢过程, 例如 Q_{O_2} 、 CO_2 的暗固定、G-6-P 及丙酮酸水平的提高和 C_1/C_6 比的降低; (5) 对能量传递过程抑制剂 (例如 DCCD 及 CCCP) 的敏感性。