

結球白菜种子春化过程胚組織內 核糖核酸与去氧核糖核酸含量的变化

梅澤沛 罗金陵 邱成武

(吉林农业大学)

提 要

核糖核酸 (RNA) 与去氧核糖核酸 (DNA) 的合成和积累, 不但对短日照植物光周期诱导过程的完成密切相关^[6-8], 而且对禾谷类植物春化阶段質变的完成也有密切关系^[1-2]。本实验从1962年6月1日开始至9月1日結束, 目的是要了解二年生結球白菜种子春化过程中RNA与DNA含量的变化情况。实验方法及結果介紹如下:

一、实 驗 方 法

实验材料由我校蔬菜栽培教研室供給的結球白菜 (*B. Pekinesis*, Rupr) “大綫” 品种。种子經过粒选后, 用3%的福尔馬林浸泡15分鐘, 消毒后用自来水冲洗20分鐘, 再用蒸餾水冲洗3次, 除去药液后, 放入25℃恒溫箱中催芽12小时, 約有 $\frac{1}{2}$ 的种子突破种皮时, 取出放入0°—4℃冰箱中进行春化。每隔5天分批分期进行春化处理, 共分30、25、20、15、10、5天六种处理, 每回重复三次, 每一次处理用300粒种子, 置于发芽皿中, 根据李曙軒的方法^[3], 在发芽皿中保持种子含水量达到干种子重量的70%左右, 避免发芽过長。最后將各期处理的种子一次取出, 在每一发芽皿中随机取出50粒种子进行核酸的提取; 50粒用作測定干重; 另一部分用作盆栽, 每盆播种10粒, 最后每盆留2株, 重复三次, 以測定其春化所需日数。未經春化处理的种子作为对照。

核酸的提取与定量, 按照Maurice Ogur与Gloria Rosen^[4]的方法进行。將50粒帶皮的种子放入玻璃乳鉢中, 在冰块加食鹽的冰桶內 (保持溫度在0℃左右) 迅速磨成匀漿, 10分鐘左右, 用显微鏡檢查匀漿, 直至全部組織磨烂为止。

I. 非核酸物質的提出

A. 醇溶物的提出: 將匀漿用5毫升70%酒精洗入离心管, 在4℃条件下离心, 倒去上层浸出液, 再加入5毫升含有0.1%过氯酸的70%酒精, 在冷冻的条件下再离心一次, 傾去上层浸出液。

B. 醇—乙醚混合液溶解物質的提出: 將A处理留下的沉淀物, 加入5毫升3:1

的酒精与乙醚混合液。混匀后放入水浴中沸騰 3 分鐘，离心傾去上层浸出液，用同样方法重复一次。

C. 酸溶物質的提出：將 B 处理后留下的沉淀物，加入 5 毫升冷的 0.2N 过氯酸，拌勻后离心，傾去上层浸出液。这一处理尽可能快点完成，用同样方法重复一次。

II. 核酸的提取

A. RNA 的提取：將 I—C 处理后留下的沉淀物，加入 5 毫升 1N 过氯酸，放在 4℃ 的冰箱中，浸泡 5—6 小时后，进行离心，上层清液即为 RNA 提取液。將提取液保存于 50 毫升的三角瓶中，用同样方法重复一次，收集 RNA 浸出液进行定量測定。

B. DNA 的提取：將 II—A 处理后留下的沉淀物，加入 5 毫升 0.5N 过氯酸，在 70℃ 的水浴中經 20 分鐘后，离心，上层清液即为 DNA 浸出液，把上层浸出液傾入 50 毫升的三角瓶中，用同法重复提取，收集浸出液进行 DNA 的定量測定。

III. RNA 与 DNA 的定量

將 RNA 与 DNA 浸出液，依照 Fiske 与 Subbarow 方法⁽⁵⁾測定其含磷量。分別取 RNA 与 DNA 浸出液各 10 毫升，加濃硫酸后，放入 130°—160℃ 的砂浴中，使有机磷无机化之后，稀釋，加入 Fiske 与 Subbarow 还原显色剂，在 660m μ 波長紅光中比色。从而获得了 RNA—P 与 DNA—P 的含量，分別用系数 0.095 及 0.099 除之，計算 RNA 与 DNA 的含量。

二、实验結果与討論

从表 1 可以看出，“大綫”結球白菜在 0°—4℃ 条件下，通过春化的最适时间为 25 天。

表 1 “大綫”种子抽苔情况与不同春化日数的关系

春 化 日 数	盆 栽 总 株 数	抽 苔 总 株 数
0	6	0
5	6	0
10	6	0
15	6	0
20	6	2
25	6	4
30	6	2

1962年 7 月 5 日播种，8 月 25 日調查

表2 不同春化日数“大浬”种子内RNA与DNA含量的变化 (单位：毫克)

春化日数	每 50 粒 种 子						
	干 重	RNA—P量	DNA—P量	RNA含量	DNA含量	RNA/DNA值	核酸总含量
0	145.0	0.8000	0.0800	8.4210	0.8080	10	9.2290
5	133.0	1.0020	0.0930	10.5473	0.9394	11	11.4867
10	133.2	0.5875	0.2300	6.1842	2.3232	3	8.5074
15	150.3	0.6675	0.2270	7.0263	2.2929	3	9.3192
20	160.0	0.5375	0.2850	5.6589	2.8787	2	8.5376
25	143.3	0.7325	0.2851	7.7105	2.8797	3	10.5902
30	147.0	0.6500	0.1700	6.8421	1.7171	4	8.5592

从表2可以计算出各个不同春化时期，每百毫克种子干重所含RNA、DNA与核酸(NA)总含量的百分率，作成如图1，便于比较。

实验结果分析，明显地看出下列几点：

1. 春化第5天，RNA含量迅速增加到最大值，较对照增加了36%；但从第10天起则呈现大幅度下降的现象，至第20天接近春化质变完成时机，RNA含量达到最低，仅为对照的60%；第25天春化完成时期虽稍有升高，但也仅及对照的93%。

2. DNA的含量在春化头5天的增加较缓，但从第10天起，随着RNA的显著下降而大幅度上升。春化过程越来越深，DNA的含量越来越高；第25天春化完成时期，其含量为对照的400%而达到最大值。

3. 春化完成以后，不论RNA与DNA均呈现下降现象，这和李淑俊、殷宏章的实验结果相似⁽¹⁾。

4. RNA/DNA的比值，在春化最初5天达到11，以后稳定在3左右。

Конарев, В. Г. 实验指出，禾谷类种子春化的完成是由胚组织中核酸，尤其是RNA的显著累积密切相关⁽²⁾。从我们的实验结果看来，结球白菜种子春化过程中，胚组织内核酸的代谢是非常强烈的，其春化质变的完成，可能与RNA含量的下降和DNA的大量合成和积累有密切关系。

关于“大浬”种子春化头5天RNA含量的增加，可能与胚中分生组织的萌动及蛋白质的大量合成相适应。以后，由于种子细小，又长期处于连续的黑暗之中，引起营养物质供应不足，在这样的条件下，假定胚组织的质变过程是与DNA的合成和积累有关

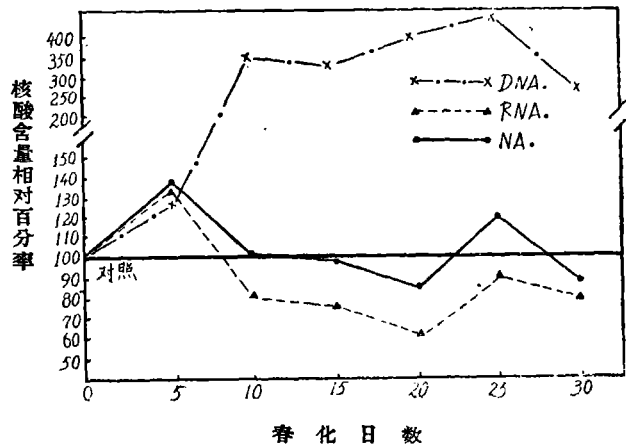


图1 结球白菜春化过程每毫克干重种子中核酸相对含量的变化 (对照为100%)

的话,那么DNA复制的原料,很可能由RNA的降解产物来满足,从而表现出RNA含量的降低与DNA含量的上升。结果, RNA/DNA的比值由最初的11迅速下降到3左右。这个不成熟的推测是否可能,有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 李淑俊与殷宏章: 春化过程中小麦胚中核酸含量的变化。植物生理学通讯2: 1—4, 1956。
- [2] Конарев, В. Г., Биохимия: 19, 2, 1956.
- [3] 李曙轩与寿诚学: 春化及光照对于白菜及芥菜发育的影响。植物学报6: 1, 7—26, 1957.
- [4] Maurice Ogur and Gloria Rosen, Archives of Biochem. Vol. 25, 262—279, 1957.
- [5] W. W. Umbreit, R. H. Burris and J. F. Stauffer, Manometric Techniques, 272—273, 1957.
- [6] Salisbury, F. B. and J. Bonner, Inhibition of photoperiodic induction by 5-fluorouracil pl. physio. 35: 173—177, 1960.
- [7] J. Bonner and Jan A. D., Zeevaart, Ribonucleic acid Synthesis in the bud an essential Component of floral induction in xanthium. pl. physio. Vol. 37: 1, 43—49, 1962.
- [8] Jan A. D. Zeevaart, DNA multiplication as a requirement for expression of floral stimulus in pharbitis nil. pl. physio. 37: 3, 296—304, 1962.