玉米萌發期間子葉盤酸性磷酸酶活性之研究

吳貞瑩* 童武夫**

摘 要

玉米萌發期間子葉盤的酸性磷酸酶活性，並未隨著幼苗的生長而增高，反而有緩慢下降的趨勢。第六天幼苗子葉盤可溶性蛋白質含量急劇降低，反映了組織已開始老化。吉貝素或細胞分裂素的處理，可促進子葉盤酶活性的增高。同時也維持可溶性蛋白質含量的穩定，而延緩組織的老化。酸性磷酸酶主要存在於子葉盤組織中，祇有少量的酶活性能在離體子葉盤的浸液中測得。無論是吉貝素或細胞分裂素的處理，都不會增高酶分子的釋放。

在玉米萌發期間，可觀察到五條酸性磷酸酶的異構酶帶。其中 C_1 異構酶活性隨著幼苗的生長而增高，而 C_3 異構酶活性則穩定地呈現於各萌發階段。根據異構酶在各萌發時期的相對活性及在電泳場中的泳動距離，推論酶分子為兩次體所組成且此五條異構酶為四類多肽的組合。利用蔗糖坡度離心法分離各次細胞部分，以確定酶活性在細胞內的分佈，其結果顯示酸性磷酸酶主要存在於細胞膠質，祇有少量活性組合於內質網及細胞膜。

緒 言

生物體內許多生理機能都與細胞的磷酸酶活性有關；例如肝糖的分解與合成，細胞內能量平衡的維持以及一些酶分子的活化作用常有磷酸酶的參與（ Roche 1950 ）。存在於植物組織的磷酸酶主要爲酸性磷酸酶（ EC 3，1，3，2 ），因其最適宜的酸鹼度爲 pH 5 至 pH 6。高等植物及眞菌；如含油種子、馬鈴薯和擔子菌類，都被發現含有相當高的酸性磷酸酶活性。酸性磷酸酶能水解多種磷酸化化合物如磷酸單酯、核苷酸（ nucleotide ）的單、雙或參磷酸，無機焦磷酸（ inorganic pyrophosphate ）等（ Singer 1948 ）。植物種子在萌發初期對於磷的代謝作用，酸性磷酸酶也負有相當重要的任務（ Tamura 等人 1982 ）。

有核機體（ eukaryotic organism ）的細胞具有明顯而精密的分工。大多數的酶都具有多種不同分子結構，但催化性質相同的異構酶（ isozyme ）。它們分別作用於不同的代謝條件、分佈於不同的次細胞部分以及作用於不同分化階段的細胞（ Markert 1975 ）。酸性磷酸酶的專一性較低，更可能是多種催化性質相同的酶羣所組合。因此，各異構酶的生理機能及發育階段的變化，必具有重要的生理意義。玉米子葉盤爲含多量脂質及蛋白質的貯藏組織，其在種子萌發初期的代謝功能旺盛，並有協助輸送胚孔中的營養以供應胚的發育。本文就是以子葉盤爲材料，觀察玉米萌發初期子葉盤酸性磷酸及酶在細胞內的分佈狀況。

*高雄縣婦嬰護專

**國立台灣師範大學生物學系

材料與方法

一、材料處理及浸出液的備製：

臺南十一號雜交玉米由農林廳種苗改良繁殖場提供。種子先以5％次氯酸鈉浸泡 15 分鐘，用流水冲洗，最後再以蒸餾水浸洗之。洗淨種子排列於舖有棉花的保鮮盒，置於 25°C 、光照強度爲4,600 Lux的生長箱萌發。黑暗組則是以錫鉑紙包緊，再置入生長箱內的小紙箱中培養。

洗淨的種子於無菌箱中剝取子葉盤，並分成兩組；一組的子葉盤含胚。另一組的子葉盤去胚。兩組分別置於無菌燒杯中，再加入緩衝液（0.05 M Tris/HCl pH7.5 ）或含有10^{-6}M 吉貝素或10^{-5}M 細胞分裂素的緩衝液浸泡之。杯口緊蓋保鮮膜，置 25°C 生長箱中。

二、萃取液的備製及硫酸胺分割：

取定數的子葉盤並加入每克組織 4 毫升的冰冷緩衝液（ 0.05M Tris/HCl pH 7.5 ），以 Polytron 高速打粹組織，在 4°C， 9,000×g 離心 15 分鐘後，收集的上清液爲初萃取液。

在初萃取液中加入固態的硫酸胺，使成30％的飽和濃度，於 4°C溫度下攪拌 10 分鐘以溶解完全，再以 9,000 × g離心，除去沈澱物。將所得上清液再如前述加入硫酸胺，使達到 50％ 的飽和濃度後，離心並收集沈澱物。加少量緩衝液以溶解所得的沈澱。最後置於 4°C下隔液透析。透析後的溶液再次離心，收集上清液即爲濃縮的酶萃取液。

三、膠體電泳及呈色：

平板的 7％聚丙醯胺膠體是根據Davis(1965)的方法備製。而 12％ 平板澱粉膠的電泳則如前文（ Tong 等人 1983 ）所述。電泳完成後膠體內的酸性磷酸酶活性呈色，是加入含有 0.1％ fast black 及 sodium naphthyl acid phosphate 之 0.05M sodium acetate 緩衝液 pH 5.0（ Shaw 和 Prasad 1970 ），俟完全呈色後照像。

四、不連續蔗糖坡度離心：

抽取細胞內胞器使用的研磨液是修改Nagahashi 和Hiraike（ 1982）所採用的配方。研磨液含有 0.6M蔗糖、1 mM Dithiothreitol、1 mM EDTA 及 30 mM Tris/HCl 緩衝液 pH7.5 。不連續蔗糖坡度的配製則如Scandalios 等人（ 1980 ）所述；在 14 毫升離心管內依次加入 1.5毫升、60％ ；1.5毫升、50％；3毫升、43％ ；3毫升、35％ 及 1.5毫升、30％ 蔗糖溶液。取 50 個子葉盤置培養皿中，加入 8 毫升研磨液，用鋒利刀片切碎之，直到呈乳糜狀爲止。然後以兩層紗布過濾，濾液在 4°C 下以 500 rpm 離心 5 分鐘，收集上層液。將收集的上層液小心地加注於蔗糖坡度的最上層，以 SW rotor 在 4°C下、25,000 rpm 離心 4 小時。離心後的蔗糖坡度以管底穿洞，並用定速唧筒控制其流量，同時在 280 nm 波長下測定吸光度，然後分管收集，每五滴爲一管。

五、酶活性及可溶性蛋白的測定：

酸性磷酸酶的活性測定是依照Bergmeyer（ 1963 ）所述，以p-nitrophenyl phospnate爲受質。3 毫升的反應溶液中含 3 mM p-nitrophenyl phosphate、1 mM EDTA 及 0.1M sodium acetate 緩衝液 pH 5.0 。在加入0.05毫升萃取液後，置於 30°C 水浴中作用 1 分鐘，再加入 2 毫升 0.05M sodium carbonate 以中止反應，然後在 400 nm 波長下測定吸光度。酶活性反應隨著作用時間的增長而增高，至少在 5 分鐘內酶的活性反應呈直線上升。酶活性單位（ unit ）= A_{400} × 1000 ／ 1.624 × 10^4min。

無機磷的測定則如上述，但在 30°C 水溶中作用 1 分鐘後，取出反應溶液 0.9毫升加入 2.1 毫升的混合溶液（一份 10％ascorbate 及六份 0.42％ammonium molydbate）均勻混合後再置於 30°C 水溶中作用 30 分鐘，最後在 820 nm 波長下測定吸光度（ Ames 1966 ）。

觸媒酶（ catalase ）活性測定是根據Chance 和Maehly（ 1955 ）的方法。3 毫升的反應溶液含 0.06％ 過氧化氫、0.02M potassium phosphate 緩衝液 pH 7.0 。於加入 0.04 毫升酶溶液均勻混合，並立刻在 240 nm 波長下連續記錄吸光度的變化速率。

需鉀核苷三磷酸酶（ K^+ －ATPase ）活性

測定（ Leonard 和Vanderwoude 1976）：1.5 毫升反應溶液含 3 mM ATP、30mM Tris／HCl緩衝液pH 7.5 、3 mM magnesium sulfate、50mM potassium chloride。加入酶溶液後置 30°C 作用 2 分鐘，然後測定無機磷的含量。

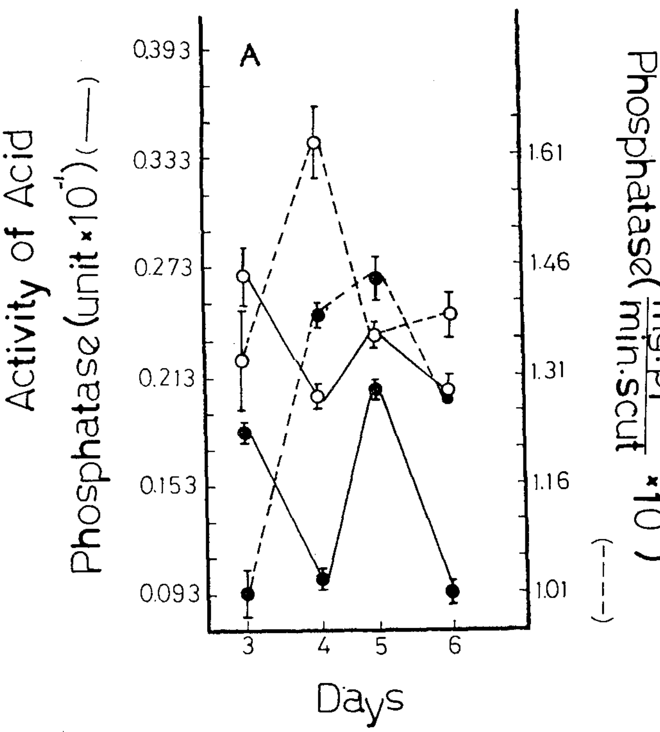
細胞色素C氧化酶（ cytochrome c oxidase）的活性測定（ Smith 1955 ）：先以 sodium ascorbate 完全還原細胞色素C，再利用 Sephadex G-25 分離除去多餘的ascorbate 。取備製的還原性細胞色素C 0.1毫升和0.85 毫升的0.1M phosphate 緩衝液 pH6.5混合後，加入0.05 毫升酶溶液後立刻在 550 nm 波長下記錄細胞色素C 被氧化的速率。

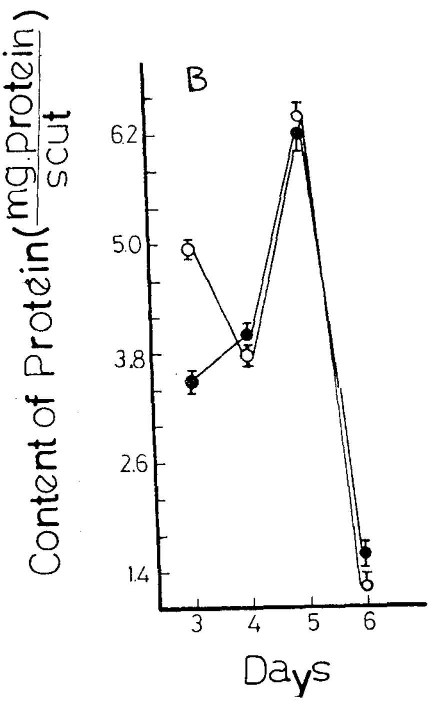
NADH-細胞色素C還原酶（ NADH-cytochrome c reductase ）的活性測定（ Leonard 等人 1973 ）：反應溶液含 1.66mM sodium cyanide、0.03mM 細胞色素C、50mM phosphate 緩衝液 pH7.5 、0.1mM NADH。加入酶溶液後置於 25°C 水浴作用，並在 550 mM 波長下測定吸光度改變的速率。

可溶性蛋白質的測定採 Lowry 等人（1951）的方法，而以小牛血清蛋白作爲濃度標準。

實驗結果

通常高等植物都可測得酸性磷酸酶的活性，而鹼性磷酸酶活性則低且不易測得（ Roche 1950 ）。從芽鞘剛突出種皮的第三天開始測得磷酸酶活性，一直到第六天。子葉盤內的酶活性並未隨著幼苗的生長增高，反而稍有下降的趨勢（圖一A ）。光照幼苗子葉盤的酶活性明顯地高於黑暗生長的幼苗，然而光照並未影響到子葉盤

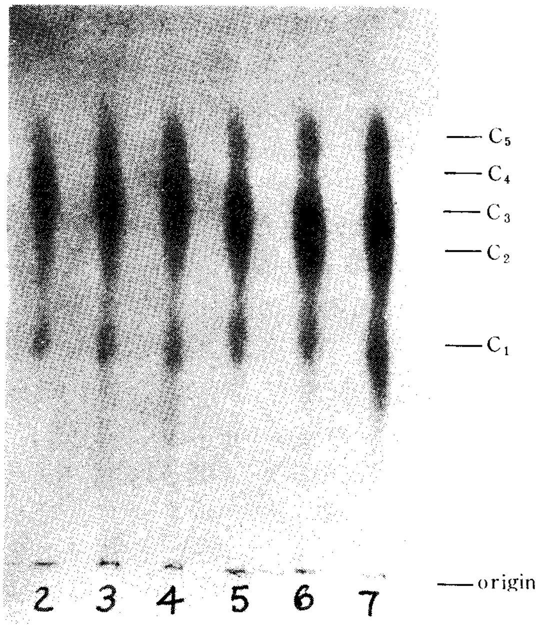




圖一　幼苗發育期間子葉盤酸性磷酸酶活性及可溶性蛋白質含量之變化。
A. 酸性磷酸酶活性。（○）表光照幼苗，（●）黑暗生長幼苗。
B. 可溶性蛋白質含量。（○）表光照幼苗，（●）黑暗生長幼苗。

內可溶性蛋白質含量（圖一B），顯示光照作用並非增強子葉盤組織的總代謝活性，而祇是導致部分酶系統的活性增高，如酸性磷酸酶。不論是光照或黑暗組，第五天幼苗子葉盤的酸性磷酸酶活性却較高，可能是組織中可溶性蛋白含量增高所造成的。第六天幼苗子葉盤可溶性蛋白含量急劇降低，似乎與組織的老化有關。因爲子葉盤爲種子中養分貯藏組織之一，其功能爲動員貯存養分供給胚的發育，故在完成任務之後便呈現老化。使用無機磷測定法容易受到組織內無機磷池（ inorganic phosphate pool ）的干擾，因此其結果適於作爲比較和參考，以推論組織中無機磷池的變動情形。

由於子葉盤含有澱粉酶活性，故對初萃取液中酸性磷酸異構酶的分析，採用聚丙醯胺膠體電泳法。子葉盤初萃取液中具有五條酸性磷酸異構酶帶（圖二）。從第三天到第八天的幼苗發育期間，C_3 異構酶活性並未改變，C_1 及 C_5 前隨著幼苗的生長稍有增強，活性增強較明顯者爲 C_2 異構酶，相對地 C_4 活性則在發育初期較爲顯著，



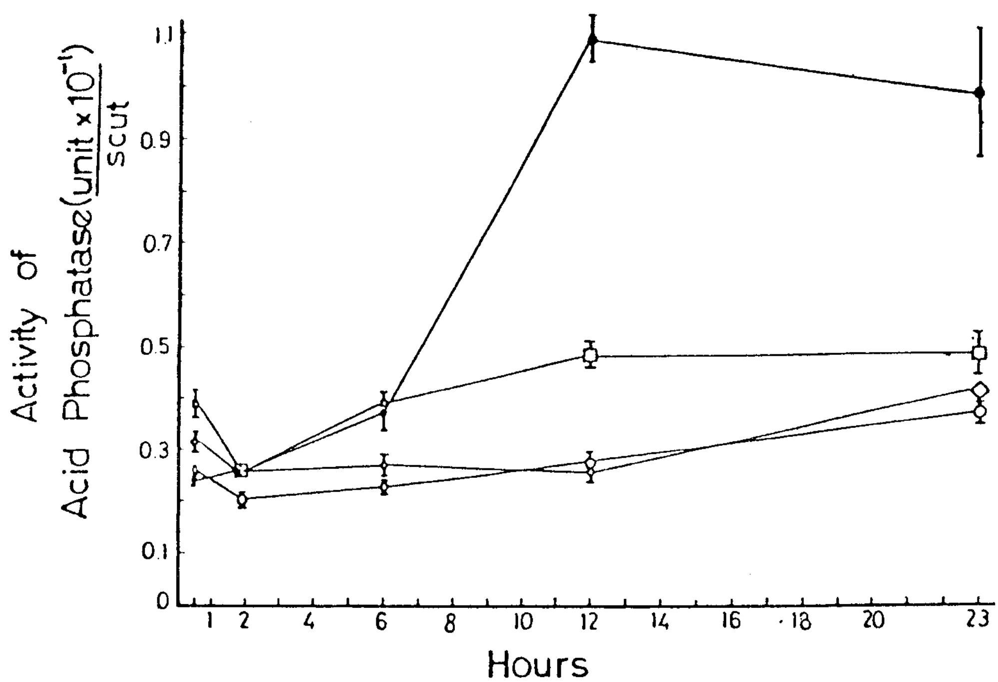
圖二 玉米幼苗發育期間子葉盤的酸性磷酸異構酶。等數子葉盤的萃取液以 7 % 聚丙醯胺膠體，15mA 電流通電15小時後呈色的異構酶。數目表萌芽的天數。

表二：萃取液中酸性磷酸酶對不同受質的活性。取第六天的子葉盤以含 1 % mercaptoethanol 之 0.05M Tris／HCl pH 7.5 緩衝液萃取。用無機磷測定法測定。

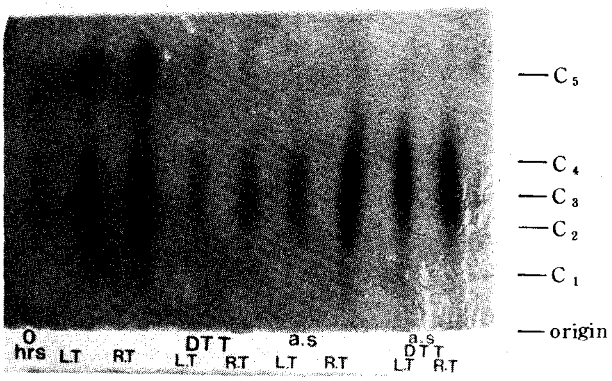
受　　質	$\frac{mg \cdot pi}{min \cdot scut} \times 10^{-1}$
P-nitrophenylphosphate	1.368 ± 0.011
Glucose-1-phosphate	1.344 ± 0.011
Glucose-6-phosphate	1.056 ± 0.028
Guanosine 5′-monophosphate	1.04 ± 0.043
Adenosine monophosphate (Adenylic acid)	1.024 ± 0.09
Adenosine 5′-triphosphate	2.512 ± 0.156
Fructose-1,6-diphosphate	1.12 ± 0.02
Cytidine 5′-monophosphate	0.96 ± 0.021
Uridine 5′-monophosphate	0.88 ± 0.021
Uridine 5′-diphosphate	1.79 ± 0.059
Uridine 5′-triphosphate	2.512 ± 0.009

到第五天以後逐漸消失。

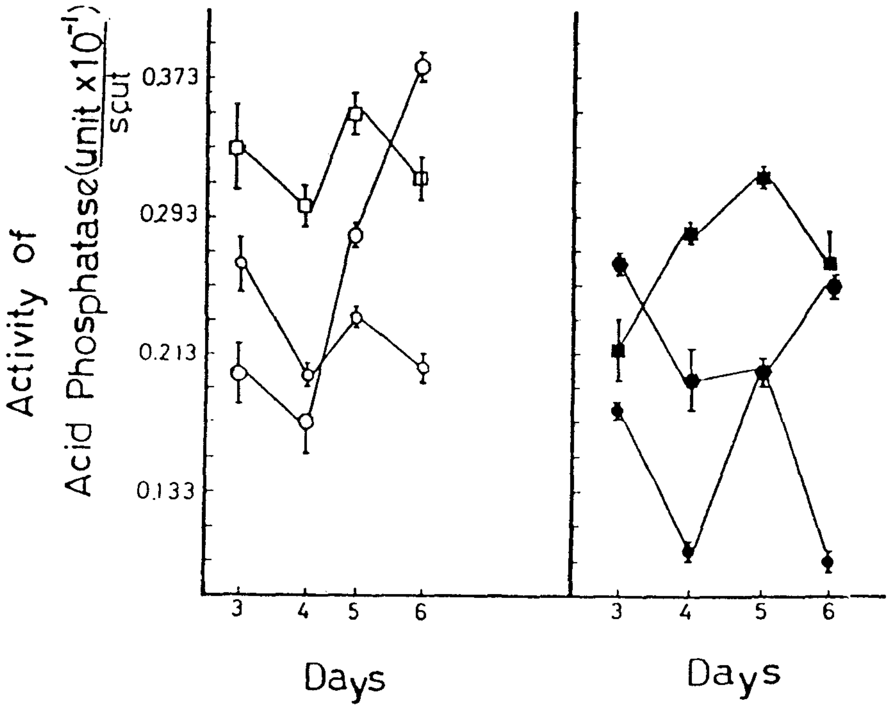
酸性磷酸酶對不同磷酸酯化合物的水解功能如表一所示；三磷酸酯如ATP、UTP的水解反應最高，顯然是高放能反應所致。對單磷酸酯而言，酶對嘌呤單磷酸如AMP、GMP的水解能力比嘧啶單磷酸稍高。水解葡萄糖一磷酸的活性也比葡萄糖六磷酸爲高，顯示子葉盤輸送單糖供應幼苗生長主要源自胚乳組織多糖類的水解，而由脂質轉化再經由糖合成（gluconeogenesis）所得的受質來源較少。至於對三磷酸脂的水解功能，則有助於維持ATP、ADP間能量轉化系統平衡的功能。酸性磷酸酶通常相當穩定，在5°C低溫活性可保持9至12日（Singer 1948）。子葉盤的酸性磷酸酶也很穩定，在4°C低溫下活性在24 小時內並不改變。但如果保持於25°C，則活性反而有明顯昇高（圖三）。12 小時後的酶活性增強到原來活性的四倍。若是萃取液中加有1％mercaptoethanol，則這種酶活性的增強效果則降低。此結果顯示萃取液中含有酸性磷酸酶的活化物，常溫下可促進活化物的作用，而mercaptoethanol 的存在可直接或間接地降低此活化效果。這種溫度所造成的酶活性增強，也可在電泳後各異構酶的呈色反應獲得印證（圖四)。在室溫下置放12 小時後，各異構酶活性都增強，尤其是C_1 活性的增高最爲明顯。若萃取液含有5 mM dithiothreitol，則和mercaptoethanol一樣可抵消這種活性的增強作用。經由30％ 到50％ 硫酸胺分割濃縮後，會喪失大部分的C_1及C_5異構酶活性，但C_2、C_3、C_4異構酶則相當完整。此濃縮液中的異構酶亦呈現有室溫誘導的活化作用，若是濃縮液中含有dithiothreitol，則在低溫下亦有增強酶活性的表現。可能是在濃縮液中，dithithreitol 的存在可消除溫度因子的活化作用之控制。這種還原劑對酶的影響並非急劇性，因爲在酶活性測定時才加入dithiothreiol 並不會改變酶活性。



圖三　溫度及還原劑對酸性磷酸酶活性之影響。第六天子葉盤以含 1 ％mercaptoethanol 或不含之緩衝液萃取，再各分爲兩組，一組置 25°C，一組置 4°C，於適當時間取出萃取液測定酶活性。□，◇ 表含mercaptoethanol，○，●則不含；□，● 表置 25°C，◇，○表置 4°C。

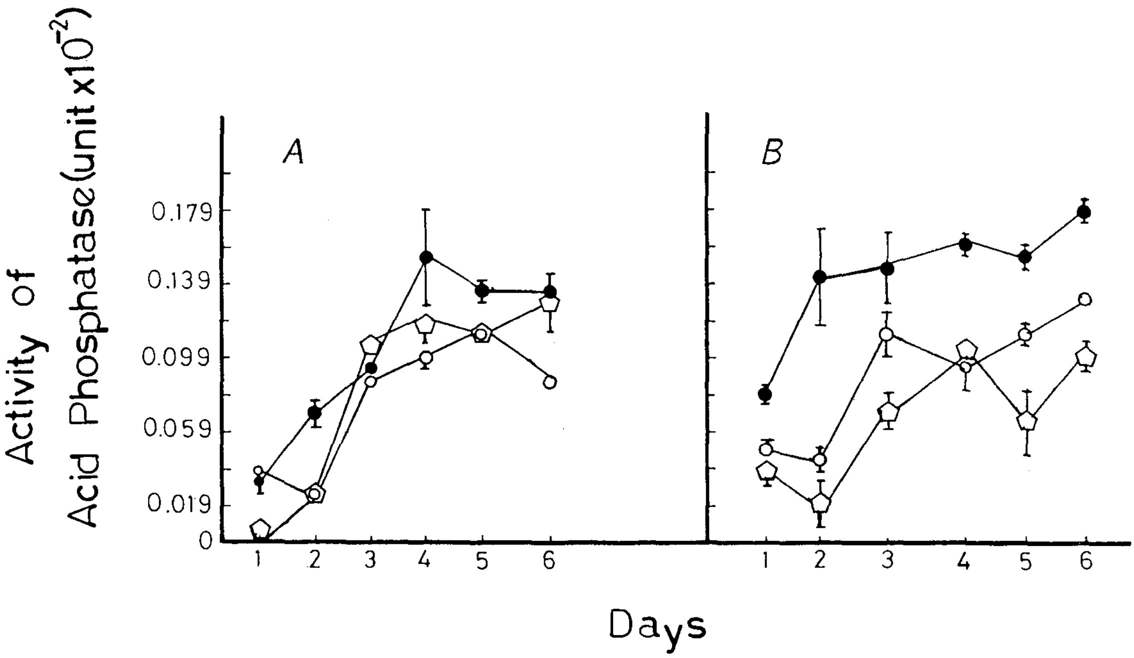


圖四 溫度及還原劑對酸性磷酸異構酶之影響。第六天子葉盤以含或不含 5 mA dithiothreitol 的緩衝液萃取後，分爲兩組分別置 25°C 及 4°C 12 小時後，電流分析。LT 及 4°C，RT 表 25°C，a.s 表 30-50 %硫酸胺濃縮液。

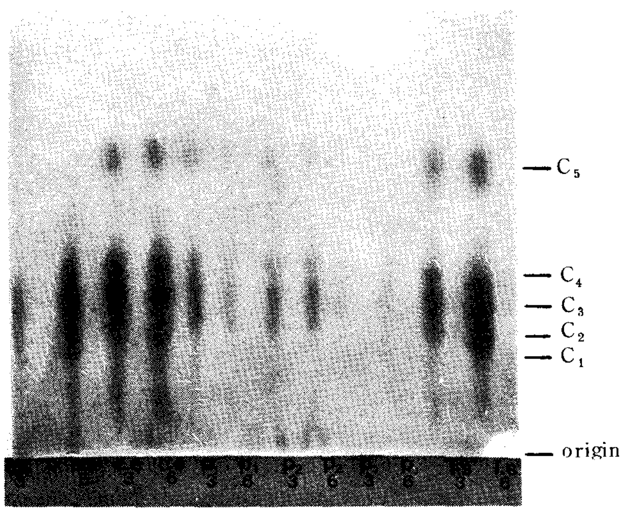


圖五 生長調節素對玉米子葉盤酸性磷酶活性之影響。○，● 分別表光照及黑暗的對照組；⬡，⬢ 表 10^{-6}M 吉貝素處理；□，■ 表細胞分裂素處理組。

無論是光照或黑暗生長的幼苗，吉貝素及細胞分裂素都可促進子葉盤的酸性磷酸酶活性（圖五）。細胞分裂素顯著地提高各發育階段的酶活性，而吉貝素的促進作用則表現在第五天以後的幼苗。吉貝素或細胞分裂素都可減緩子葉盤可溶性蛋白質含量在第六天的急劇下降（結果未示），顯示這兩類生長調節素皆可延遲子葉盤的組織的老化。然而二者的影響方式並不相同；細胞分裂

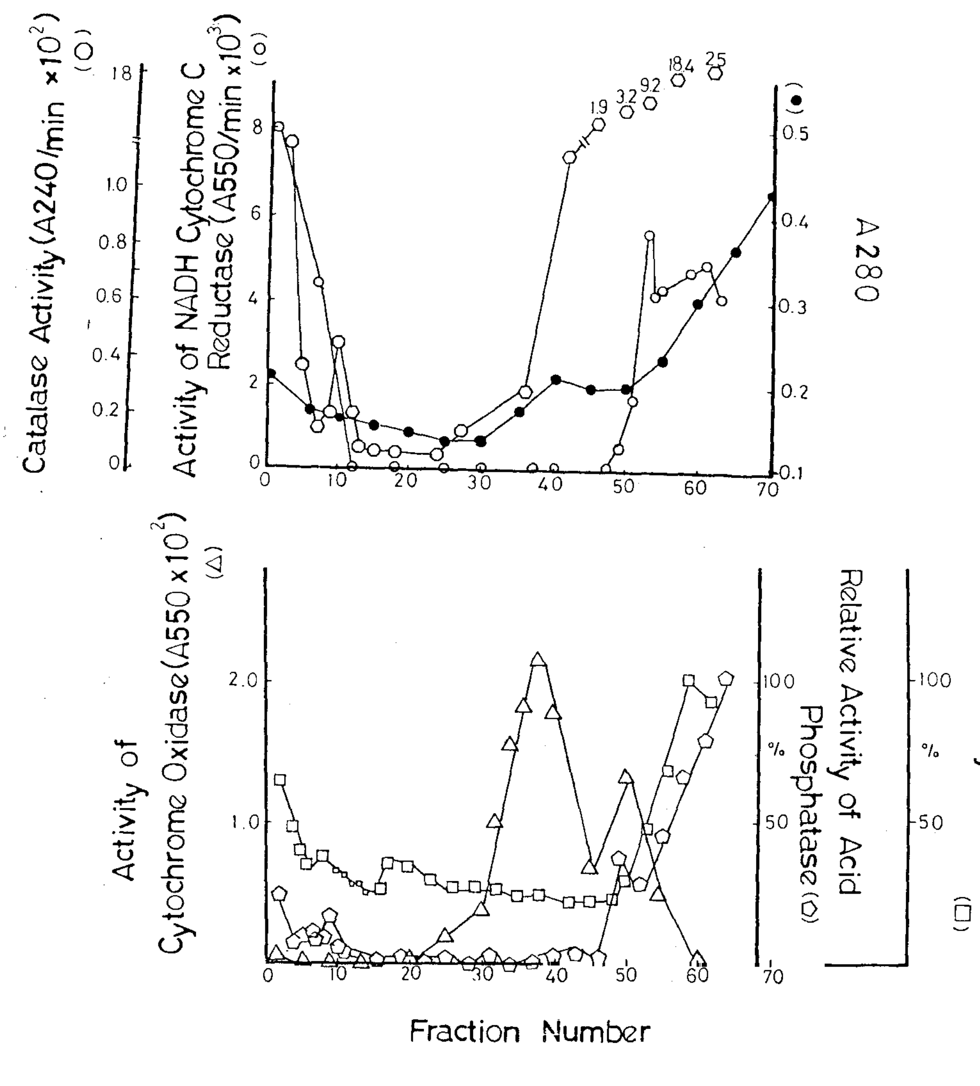


圖六　生長調節素對離體子葉盤酸性磷酸酶釋放之影響。
取種子之子葉盤 30 個，分成三組，分別浸於緩衝液（●）；含 10^{-6}M 吉貝素之緩衝液（○）；含 10^{-5}M 細胞分裂素之緩衝液（⬠）。在適當時間取出浸液測定酶活性。
A. 除胚子葉盤，B. 含胚子葉盤。



圖七　以離心法分離之各次細胞部分的酸性磷酸異構酶。a.s 表 30-50 %硫酸胺濃縮液；C.e 表初萃取液；p_1、p_2、p_3 及 I.S 分別爲 1,000 × g、6,000 × g、22,000 × g 離心所得的沈澱及最後的上清液。3,6 表第三及第六大幼苗子葉盤。

素普遍地增強各發育階段的酶活性及增高可溶性蛋白含量，促使子葉盤組織維持穩定的代謝活性。吉貝素影響可溶性蛋白含量的增高幅度較小，且對酶活性的促進祇表現於第五天後的萌發後期。通常單子葉盤植物種子的糊粉層可合成並分泌多種水解酶，以分解胚乳中的養分，提供胚的生長發育之用。外加吉貝素可替代胚的作用，刺激糊粉層細胞水解酶的合成與釋放（ Cohen 和 Paleg 1967 ， Paleg 1960 ， Paleg 等人 1964 ）。子葉盤爲玉米幼苗發育初期代謝極爲旺盛的組織。離體子葉盤能釋放少量的酸性磷酸酶。然而浸液中含有吉貝素或細胞分裂素，並不能促進酸性磷酸酶的釋放（圖六 A ）。含胚的離體子葉盤酸性磷酸酶的釋放高於不含胚者，而吉貝素或細胞分裂素則抑制此釋放作用（圖六 B ）。此結果顯示胚可促進子葉盤酸性磷酸酶的釋放，但此促進因



圖八　蔗糖坡度離心後的次細胞部份及酸性磷酸酶活性的分佈。收集第五天幼苗的子葉盤，製備次細胞萃取液如材料與方法所述，離心分管後，各種酶活性的測定結果。

素並非像大麥一樣爲胚分泌的吉貝素，外加吉貝素或細胞分裂素反會干擾胚促進酶釋放的機制。

根據Nagahashi 和Hiraike（ 1982 ）使用的方法，以不同離心力及離心時間可粗略地區別各次細胞部分；1,000×g 離心5分鐘的沈澱物主要爲細胞核並少許黏附核膜的內質網。6,000×g，20分鐘的沈澱主要是粒線體及微體（microbody ）。22,000×g, 20分鐘的沈澱爲微質部分（microsomal fraction ）最後的上清液則爲細胞膠質（cytosol ）。根據電泳膠內異構酶的呈色，可明顯地觀察到酸性磷酸酶主要存在上清液，而微質部分的活性最低且無C_1 及C_5異構酶活性（圖七）。比較第三天及第六天的酶活性分佈，可分辨出上清液部分酶活性以第六天者較高，細胞核部分則是第三天的酶活性較強。爲更精確明瞭酸性磷酸酶在細胞內的存在位置，而使用蔗糖坡度離心法以分離各次細胞部分。圖八爲蔗糖坡度離心後的分離結果。觸媒酶活性分佈於上清液的細胞膠質爲主，小部分於微體。此酶活性可作爲微體的標誌。NADH-細胞色素還原酶及K^+-ATPase 則分別標誌內質網及細胞膜。細胞色素氧化酶活性祇能見於粒線體。根據這些標誌酶活性的分佈，可推測各次細胞部分在蔗糖坡度內的位置，比較酸性磷酸酶活性的分佈，可以確定其主要存在於細胞膠質中，祇有少量的活性組合於內質網及細胞膜系構造，可見酸性磷酸酶並不直接參與粒線體及微體內的代謝功能。

討　　論

酸性磷酸酶爲寬專一性的酵素。活性的測定常以p-nitrophenyl phosphate爲受質，當其磷酸鍵被水解後會釋出p-nitrophenol 而在鹼性溶液中呈現顏色反應（Bergmeyer 1963）。爲了觀察酶對各種不同的磷酸酯化合物的水解功能，必須採用無機磷測定法確定無機磷釋出的速率（Ames 1966 ）。因爲植物組織在生長發育過程中，組織內無機磷池的大小亦會隨著改變，容易干擾無機磷測定的結果。因此，這種測定結果祇適於參考，不能正確反映組織在生長發育過程中酶活性的變化。由於酶的寬專一性，就如同過氧化酶（peroxidase）、酯酶（esterase ）一樣，在細胞內的代謝作用中擔負著雜工式的任務。不像大多數的酶專一性高，祇作用於代謝經路的單一化學反應。因此，絕大多數的植物組織都具有酸性磷酸酶，其異構酶的觀察非常適於生理、遺傳及演化方面的研究題材。

玉米觸媒異構酶的研究結果指出，組成五條異構酶的酶分子常是含四次體的蛋白質。若酶分子含兩次體，則應呈現三條異構酶帶（scandalios 1968 ）。子葉盤的酸性磷酸酶表現五條異構酶帶，其酶分子的結構有下列兩種可能；(1)酶分子具有四次體，各異構酶分別由兩類多肽A、B所組成。就如同前述的觸媒異構酶，各異構酶分別爲4A、3A2B、2A2B、1A3B 及4B。(2)酶分子含兩次體，各異構酶分別由四類多肽A、B、a、b組成，其中A、B兩類多肽可以相互組合，而a、b則否。換言之，各異構酶分別爲2a、2A、AB、2B、2b。從異構酶在各幼苗發育階段的觀察結果，得知C_2、C_3、C_4 三異構酶皆同時並存，且其相互間的泳動差距也相當。相反地，C_1 和C_2的泳動差距與C_4和C_5 的差距有極明顯的差異。因此這五異構酶應該不是由兩類多肽所分別組成。再者於已發表的有關植物酸性磷酸酶的報告指出，酶分子爲兩次體組成（Jacobs 和Schwind 1975）。根據上述理由認爲子葉盤的酸性磷酸酶的異構酶分子結構應該屬於第二種說法。

細胞內的蛋白分解酶系統（proteolytic enzyme system ），能活化酶蛋白或不具活性的酶原之例子也不少（Neurath 和walsh 1976)。丙酮酸氧化酶（pyruvate oxidase）的活性會受到蛋白分解酶系統的修飾（Russell 等人 1977）就是一個例子。這種活化作用有的是改變酶分子的初級構造，從而影響到酶的活性中心。有的是阻止酶分子的聚集，而提高酶的作用能力。酸性磷酸酶在室溫下會增高酶活性。這種活性的增高似非由於酶分子直接受到氧化或還原所造成，很可能是在萃取液中具有活化物，且此活化物和蛋白分解酶系統有關。在生理機能而言，會牽涉到磷酸鍵水解作用的反應主要有兩類；(1)磷酸酶的

作用爲細胞 futile cycle 運行的一環，不但能調節細胞內的能量平衡，亦即有擴大代謝調節之訊息（ stryer 1981 ）。酸性磷酸酶主要存在於細胞膠質中，配合了磷酸酶應有的生理功能。(2)具有磷酸鍵的化合物通常難以通過細胞膜，故在輸送這些化合物前必須先切除磷酸鍵。子葉盤細胞內如內質網及細胞膜等膜質構造亦可測得磷酸酶活性，可能有助於物質的輸送。相對地，粒線體及微體內的代謝作用並無磷酸酶的參與。

單子葉盤植物種子胚孔中貯存大量養分，萌發時必須加以分解、輸送，來供應幼胚的發育。玉米子葉盤本身也貯存有大分子養分。在萌發過程中除了本身組織中呈現高度的代謝活性以動員養分外，兼具輸送胚孔的養分。但在幼苗的發育後期，當子葉盤完成其任務，就逐漸老化。大麥種子胚乳中養分的動員，吉貝素扮演極重要的任務（ Briggs 1963 ）吉貝素也能誘導小麥澱粉酶的合成及分泌（ Paleg 1960 ， Paleg 等人 1964 ）。吉貝素作用最適宜的濃度範圍爲 10^{-8} 至 10^{-6} M（ Chandra 和Duynstee 1968）。玉米子葉盤酸性磷酸酶的釋放，並不受吉貝素的影響。在含胚的子葉盤，吉貝素反會抑制酶的釋放。大麥糊粉層的酸性磷酸酶具有分解植酸鹽（ phytin ）的功能（ Bailey等人 1976 ）。玉米子葉盤的磷酸酶主要存在組織中，祇有少量釋放到浸液，顯示子葉盤可能是玉米植酸鹽的主要貯存處。吉貝素也促進第四天以後酸性磷酸酶活性。在幼苗生長的形態上，吉貝素顯著地促進幼苗的生長。因幼苗的加速生長，必須提高磷酸酶活性以滿足組織內代謝作用的需要。細胞分裂素能促進DNA 的合成，加強細胞分裂的功能，對種子的萌發也有促進的功效（ Varner 和Ho 1976）。細胞分裂素的處理會增高子葉盤磷酸酶活性，也維持組織內可溶性蛋白含量穩定。在幼苗的形態上，細胞分裂素的處理使根、莖生長緩慢，延緩了幼苗的生長發育，導致子葉盤組織老化的延遲。

參考文獻

1. Amer B. 1966. Assay of inorganic phosphate , total phosphate and phosphatases. In "Methods in Enzymology " Vol VIII (S.P. Colowick., and N.O. Kaplan , eds.) Acad. Prcss , New York , pp. 115-118.
2. Bailey , K.M., I.D.J. Phillips., and D. Pitt. 1976. Effects of gibberellic acid on the activation , synthcsis, and release of acid phosphatase in barley seed. J. Exp. Bot. 27:324-336.
3. Bergmyer , H. U. 1963. Determination in serum with p-nitrophenyl phosphate. in "Methods of enzymatic analysis", Bergmeyer , H. U. ed. pp 783-784.
4. Briggs , D.E. 1963. Biochemistry of barley germination action of gibberellic acid on barley endosperm. J. Inst. Brewing 69:13-19.
5. Chandra , G.R., and E.E. Duynstee. 1968. Hormonal regulation of nucleic acid metabolism in aleurone cells. In "Biochemistry and Physiology of Plant Growth" (F. Wightman., and G. Setterfield , eds.) pp. 7814-7903.
6. Chance , B., and A.C. Machly. 1955. In "Methods in Enzymology " Vol. II (S.P. Colowick., and N.O. Kaplan , eds) Acad. Press , New York , pp. 764-775.
7. Cohen , D., and L.G. Paleg. 1967. Physiological effects of gibberellic acid. X. The release of gibberellin-like substances by germinating barley embryos. Plant Physiol. 42:1288-1296.
8. Jacobs , M. and F. Schwind 1975. Biochemical genetics of Arabidopsis acid phsphatases: Polymorphism , tissue expression , and genetice of

Ap_1, Ap_2 and Ap_3 loci. in "Isozymes IV : Genetics and evolution", Markert, C.L. ed. Acad. Press , New York , San Francisco , London , pp. 349-369.

9. Leonard , R.T., D. Hansen., and T. K. Hodges. 1973. Membrane-bound adenosine triphosphatase activities of oat roots. Plant Physiol. 51: 749-754.

10. Leonard. R.T., and W.J. Vanderwoude. 1976. Isolation of plasma membrances from corn roots by sucrose density dessity gradient centrifugation. Plant Physiol. 57: 105-114.

11. Lowry , O.H., W.J. Rosebrough., A.L. Farr., and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.

12. Markert , C.L. 1975. Biology of isozymes. in "Isozymes I : Molecular structure " Markert , C.L. ed. Acad. Press , New York , San Francisco , London, pp. 1-9.

13. Nagahashi, J., and K. Hiraike. 1982. Effects of centrifugation time on the sedimentation of plant organelles. Plant Physiol. 69:546-548.

14. Neurath , H., and K.A. Walsh. 1976. Role of proteolytic enzymes in biological regulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 73:3825-3832.

15. Paleg , L.G. 1960. Physiological effects of gibberellic acid. I. On carbohydrate metabolism and amylase activity of barley endosperm. Plant Physiol. 35:293-299.

16. Paleg , L.G., D. Aspinall., B.G. Coombe., and P.B. Nicholus. 1964. Physiological effects of gibberellic acid. VI. Other gibberelline in three test systems. Plant Physiol. 39: 286-290.

17. Roche , 1950. Phosphatase. In "The Enzymes" Vol. I. (J.B. Summer. eds.) Acad. Press , New York , pp. 473-510.

18. Russell, P., L.P. Hager., and R.B. Genuis. 1977. Characterzation of the proteolytic activation of pyruvate oxidase. J. Biol. Chem. 252: 7877-7887.

19. Scandalios, J.G., W.F. Tong., and D.G. Roupalias. 1980. Cat_3 , a third gene locus coding for a tissue-specific catalse in maize: geneties, intracellular location. and some biochemical properties, Molec. Gen. Genet. 179:33-41.

20. Scandalios, J.G. 1968. Genetic control of multiple molecular forms of catalase in maize. Ann. N.Y. Acad. Sci. 151:274-293.

21. Shaw, C.R., and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes-A compilation of Recipes. Biochemical Genetics 4:297-320.

22. Singer, T.P. 1948. On the mechanism of enzyme inhibition by sulhydryl reagents J. Biol. Chem. 174:11.

23. Smith, L. 1955. Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase. In "Methods of Biochemical Analysis" Vol. II (D. Glick, ed.) New York Interscience Inc. pp. 427-434.

24. Stryer, L. 1981. Biochemistry. 2nd ed., Freeman & Co., San. Francisco, pp. 351-352.

25. Tamura, T., T. Minamikawa., and T. Koshiba. 1982. Acid phosphatase in cotyledons of germinating Vigna mungo seeds. Plant & Cell Physiol. 23(1): 155-159.
26. Tong, W.F., S.W. Lin, and J.H. Shiau 1983. Peroxidase and IAA cxidase in rice seedllings: Effect of light and growth regulators. Biol. Bull. NTNU 18, 57-67.
27. Uehara, K., S. Fujimota., T. Taniguchi., and K. Nakai. 1974. Studies on violet-colored acid phosphatase of sweet potato II. Enzymatic properties and amino acid composition. J. Biochem. 75:639-649.
28. Varner, J.E., and D.T.H. Ho. 1976. Hormones. In "Plant Biochemistry" (J. Bonner, and J.E. Varner, eds.) 3rd ed. Academic Press, New York. pp. 714-765.

Study on the Activity of Acid Phosphatase in the Scutellum of developing Maize Seedlings.

Wu Jen-Yng and Wu-Fu Tong

Abstract

The physiological role of acid phosphatase in the scutellum of developing maize seedlings was investigated. From third day of the germination activity of acid phosphatase in the scutellum declined slowly with grown of seedling, and the soluble protein content decreased sharply at sixth-day scutellum which indicated the beginning of tissue senescence.

Both enzyme activity and soluble protein content were increased after the seedlings had been treated with 10^{-6}M gibberellin or 10^{-5}M benzyl adenine. Only a minor fraction of enzyme activity could be observed in the incubated medium of isolated scutellum. The release of enzyme from scutellum could not be affected by addition of either gibberellin or benzyl adenine.

Five isozymes of acid phosphatase were observed during development of seedling. Activity of C_1 isozyme increased obviously with grown of seedling, while the activity of C_3 isozym maintained the same through the developmental stages. The result of subcellular fractionation by discontinuous sucrose gradient centrifugation indicates that most activities of acid phosphatase locate in the cytosol, only a minor fraction of activity associates with endoplasmic reticulum and plasma membrane.