

海藻中的功能生物活性成分——细胞激动素^{*}

孙 颢 范 晓 周永航

(中国科学院海洋研究所)

细胞激动素(Cytokinins)是植物激素的一种,广泛存在于陆生和水生植物中。绝大多数细胞激动素是嘌呤环的衍生物,在 C⁵ 位上有一个取代基侧链,它们的化学活性与其结构密切相关(Skoog *et al.*, 1970)。细胞激动素的生理作用主要是促进细胞分裂和扩张,调节细胞分化,形态建成及延缓衰老等。

人类将海藻作为肥料利用已有近两千年的历史,最初人们将施用海藻肥取得的促生长效果归因于海藻含有多种无机营养成分。近 30 年来,随着研究的不断深入,大量研究表明,海藻中含有多种植物激素,其中的细胞激动素是关键的功能成分,对植物具有特别明显的促生长作用。而且,作为一种内源性植物激素,细胞激动素在海藻本身的生长发育过程中起着至关重要的作用,它能促进藻类细胞的分裂、伸长、活性延迟及细胞内营养物质的运输等(Letham *et al.*, 1983)。

一、海藻细胞激动素的研究概况

海藻作为肥料应用的历史可追溯到公元前一世纪,当时欧洲沿海地区的人们就将海藻粉施到农田里,以改变植物生长的活性,提高产量,减少病虫害(Booth, 1966),自 1800 年以后,随着人工肥料的问世,这种方法的使用开始减少。近年来,由于人工合成肥料对环境的不利影响日趋明显,人们又开始重新考虑天然肥料和土壤调节剂。从本世纪 60 年代至今,海藻作为肥料的应用研究激增,农业和园艺上使用的商业化海藻制品显著增加,目前国际上广泛应用海藻产品作为作物增产剂。

现今意义上的“海藻肥”是指从大型海藻中提取的液态(或粉末状)提取物,利用海藻中所含的特殊有效组分和植物激素来促进陆生植物的生长。海藻肥可施用于粮食作物、水果、蔬菜、花卉等,能提高作物产量,改善植物品质,延长果实的生命期,增强作物的耐寒性,抑制病虫害(范晓等, 1989)。目前,能生产海藻肥,并使其进入国际市场的国家有挪威、英国、法国、新西兰和南非,他们每年生产上千吨海藻肥产品,如 SM3、Alginex、Marinure、Seasol、Kelpark66、Goemar GA14 等。日本及其它各国已研制出一些海藻营养素,对

^{*} 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3158 号。
收稿日期:1997 年 2 月 26 日。

水果保鲜、作物生长调节等均有良好的效果。

起初,人们把海藻提取物可促进植物生长这一现象归结为海藻中常量元素对土壤的调节作用(Quastel *et al.*, 1947),还有人认为,海藻产品对植物生长的良好促进效果是由于增加了微量元素的供应(Francki, 1960)。但经过大量的研究发现,海藻提取物中含有多种植物激素,所观察到的许多促生长效果都与这些激素的作用有关。随着对海藻肥成分研究的不断深入,大量文献表明,细胞激动素是海藻肥中的主要功效成分,其促生长作用特别明显(Bradley, 1991; Crouch *et al.*, 1993)。

1967年, Bentley-Mowat 在 *Gymnodinium splendens*, *Phaeodactylum tricornutum* 等微藻中,首次发现了具有类似细胞激动素作用的物质(Bentley-Mowat *et al.*, 1968)。以后,一些科学家对多种藻类中细胞激动素的研究取得了很大进展。

到了 90 年代,此项研究发展更为迅速。相继在绿藻中的指枝藻 *Valoniopsis pachynema*、杉叶蕨藻 *Caulerpa taxifolia* (Farooqi *et al.*, 1990);褐藻中的马尾藻 *Sargassum muticum* (Zhang *et al.*, 1991)、巨藻 *Macrocystis pyrifera* (De Nys *et al.*, 1990);红藻中的紫菜 *Porphyra perforata* (Zhang *et al.*, 1991)等许多海藻中鉴定和分离出了细胞激动素物质。值得一提的是,Zhang 等于 1991 年利用 GC-MS 技术首次从红藻(紫菜 *Porphyra perforata*)中确定了异戊烯基腺嘌呤核苷(iPA)的存在,以后又从褐藻(马尾藻 *Sargassum muticum*)中确定了异戊烯基腺嘌呤核苷(iPA)和顺式玉米素核苷(cis-ZR)的存在(Zhang *et al.*, 1991)。

与此同时,在国际市场上的各种商品海藻肥中,也鉴定出含量丰富的细胞激动素活性物质。Brain 等(1973)首次在一种商品海藻肥 SM3 中检测出较高的类细胞激动素活性水平(Brain *et al.*, 1973),他们把胡萝卜的外植体放在含有海藻肥的介质中作离体培养,发现海藻肥中含有细胞激动素活性,可以使植物产生生理学变化。以后进行的生物检测和仪器分析工作都证明了商品海藻肥中存在类细胞激动素物质。早期由 Williams 等确定的 Maxicrop, Algifert 和 SM3 所具有的细胞激动素活性分别为 25—100mg/L, 10—50mg/L, 15—150mg/L (Williams *et al.*, 1976)。Featonby-Smith 等利用溶剂萃取与 GLC 技术检测出一种昆布产品 Kelpak 66 含有类似玉米素的物质(Featonby-Smith *et al.*, 1984; Finnie *et al.*, 1985)。Tay 等利用质谱分析稳定性同位素稀释法对海藻肥 Seasol 中的细胞激动素进行了鉴定,发现其中存在反式玉米素、反式玉米素核苷以及它们的二氢衍生物,还有异戊烯基腺嘌呤、异戊烯基腺嘌呤核苷和其它几种细胞激动素糖苷(Tay *et al.*, 1985; Tay *et al.*, 1987),这些物质也在另一种海藻肥 Maxicrop 中被发现(Sanderson *et al.*, 1986)。

二、海藻细胞激动素的含量分布、化学结构及代谢

(一) 含量分布

海藻中的细胞激动素种类较多,因此有关文献都是测定其相对含量的记载,至于其含量的具体数据则报道较少。海藻中的细胞激动素活性水平受到以下因素影响:

1. 藻体生长发育阶段

研究表明,海藻中细胞激动素的活性与其季节性营养生长和发育有密切关系,一般在生长发育旺盛的时期激动素水平较高。根据 Mooney 等对马尾藻 *Sargassum heterophyllum* 的研究,发现在配子释放高峰(3月)、开始再生生长(7、8月)和孢子托发育(11月)期间,藻体内的细胞激动素活性水平非常高(Mooney *et al.*, 1984b);又据研究,巨藻 *Macrocystis pyrifera* 体内的细胞激动素活性在春、秋两季达到最高水平,此时组织生长最为旺盛;而在夏季和冬季则随着生长减慢以及细胞衰老,激动素活性大大降低(De Nys, 1990)。

2. 藻体部位与细胞激动素的关系

海藻中细胞激动素的含量与藻体的不同部位有关,分生组织中的激素含量高于其它组织。巨藻 *Macrocystis pyrifera* 幼叶基部含有居间分生组织,是叶片中生长最快的部位,其细胞激动素活性也最高(De Nys, 1990)。根据 Mooney 等对马尾藻 *Sargassum heterophyllum* 不同部位所含细胞激动素的研究,固着器中的激动素水平在 7、8 月最高;营养侧枝中的激动素水平在 3、7 月最高,而这两个月正是配子释放高峰和再生生长开始时期;生殖侧枝的激动素水平在 3、11 月达到顶峰,这也正是配子释放高峰和孢子托开始发育的时期(Mooney *et al.*, 1984b)。

藻体不同部位所含的激动素种类也有区别。在巨藻 *Macrocystis pyrifera* 迅速生长的幼叶中,细胞激动素主要以玉米素核苷和游离碱基的形式存在,其葡萄糖形式水平较低;而衰老叶片中的情况恰好相反,细胞激动素主要以葡萄糖形式存在,玉米素核苷和游离碱基形式处于较低水平(De Nys, 1990)。

3. 月球运行周期与细胞激动素的关系

海藻中的细胞激动素活性随月球运行周期表现出明显变化。藻类配子的释放按 13—14 天的间隔节律进行,与新月和满月后 24—48h 的最低春潮相对应。*Sargassum heterophyllum* 的细胞激动素水平与配子发生和释放紧密联系,达到最高峰时,正处于满月和新月(配子释放期),以及月球公转周期的第一个和最后一个 7 天的前后(原基发生期)(Mooney *et al.*, 1984a)。

4. 细胞激动素种类

不同的细胞激动素,其活性水平也各不相同,如玉米素是高等植物中活性最高的天然细胞激动素(Letham, 1978),海藻中存在的细胞激动素种类也决定了其不同的活性水平。巨藻 *Macrocystis pyrifera* 在春、秋两季,藻体组织中的细胞激动素绝大多数为非极性的游离碱基与核苷形式,此时藻体总的激素活性水平最高;而在冬季和夏季,组织中的激素形式主要为极性的葡萄糖玉米素(ZG),此时的活性水平最低(De, Nys, 1990)。

根据 Featonby-Smith 等对昆布 *Ecklonia maxima* 的研究,极性细胞激动素(葡萄糖玉米素 ZG)水平在 2、3 月间迅速下降,以后逐渐回升,6、7、8 月最高,到 12 月至翌年 1 月间降至最低;而非极性细胞激动素(玉米素核苷 ZR、玉米素 Z 及其二氢衍生物)水平则在 5、12 月较高,8 月最低(Featonby-Smith *et al.*, 1984)。

Mooney 等发现,7 月份采集的马尾藻 *Sargassum heterophyllum* 样品中,非极性的玉米素核苷(ZR)、玉米素(Z)占优,而 8 月份的样品中则主要是极性的葡萄糖玉米素(ZG),

认为这与激动素的代谢有关(Mooney *et al.*, 1984b)。

(二) 化学结构

根据 Matsubara 的研究,植物中细胞激动素的化学结构大致分为四大类:嘌呤类、修饰的嘌呤类、脲类(包括酰胺)和氨基嘧啶(Matsubara, 1980)。绝大多数细胞激动素是嘌呤环的衍生物(Skoog *et al.*, 1970),细胞激动素的基本结构如图1。细胞激动素的化学活性与其结构有关(Skoog *et al.*, 1970),主要有四个方面:(1)嘌呤环6-位上取代基的性质,包括氨基嘌呤烷基侧链的长度、侧链中双键的数目和位置、侧链的极性、侧链上甲基和其位置,以及侧链的构型;(2)嘌呤环不同位置上的取代基;(3)嘌呤环的修饰;(4)脲类和胺类因形成衍生物而影响其活性。

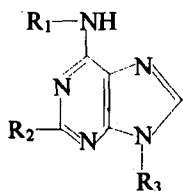


图1 细胞激动素的基本结构

目前已经确定的海藻内源细胞激动素主要有葡萄糖玉米素(glucosylzeatin, ZG)、玉米素(zeatin, Z)、二氢玉米素(dihydrozeatin, DZ)、玉米素核苷(ribosylzeatin, ZR)、二氢玉米素核苷(dihydrozeatin riboside, DZR)、异戊烯基腺嘌呤核苷(isopentenyladenosine, iPA)、异戊烯基腺嘌呤(isopentenyladenine, iP)等(图2),其中,葡萄糖玉米素(ZG)为极性激动素,其余为非极性激动素。它们具有不同的活性水平,并且在藻体中表现出最大活力的时期也不同(Mooney *et al.*, 1984b; Featonby-Smith *et al.*, 1984)。

(三) 细胞激动素的代谢

细胞激动素的作用几乎存在于植物生长、发育的所有时期,主要是促进胞质分裂、细胞扩张、调节器官分化及延缓衰老等。当外源细胞激动素对植物组织的发育有影响时,可引起蛋白质和遗传物质的变化。值得提出的是,控制植物生长、发育的因素很多,细胞激动素的作用只是其中之一(Guern *et al.*, 1981)。

一些专家认为海藻中细胞激动素的代谢与高等植物相似(Featonby-Smith *et al.*, 1984; Hendry *et al.*, 1982; Murofushi *et al.*, 1983)。藻体内的细胞激动素可以与葡萄糖结合生成糖苷,也可进行一系列分解反应而形成腺嘌呤,并最终降解为尿素。

细胞激动素的合成有三种形式:(1)由 tRNA 降解生成;(2)由异戊烯基焦磷酸盐转化而来;(3)由细胞内自然产生的玉米素核苷等物质之间相互转换产生。Warning 等提出,tRNA 的降解提供了内源的细胞激动素,而合成产生的细胞激动素受环境及生理变化的影响(Warning *et al.*, 1981)。Hall 认为细菌的细胞激动素主要由 tRNA 降解而产生,而高等植物则以单独合成为主(Hall, 1973)。Zhang 等从红藻 *Porphyra perforata* 中发现了 tRNA 降解产生的细胞激动素,并利用气质联用(GC-MS)确定了其类型是异戊烯基腺嘌呤核苷(iPA)和顺式玉米素核苷(cis-ZR)(Zhang *et al.*, 1992)。

细胞激动素的合成代谢见图2。

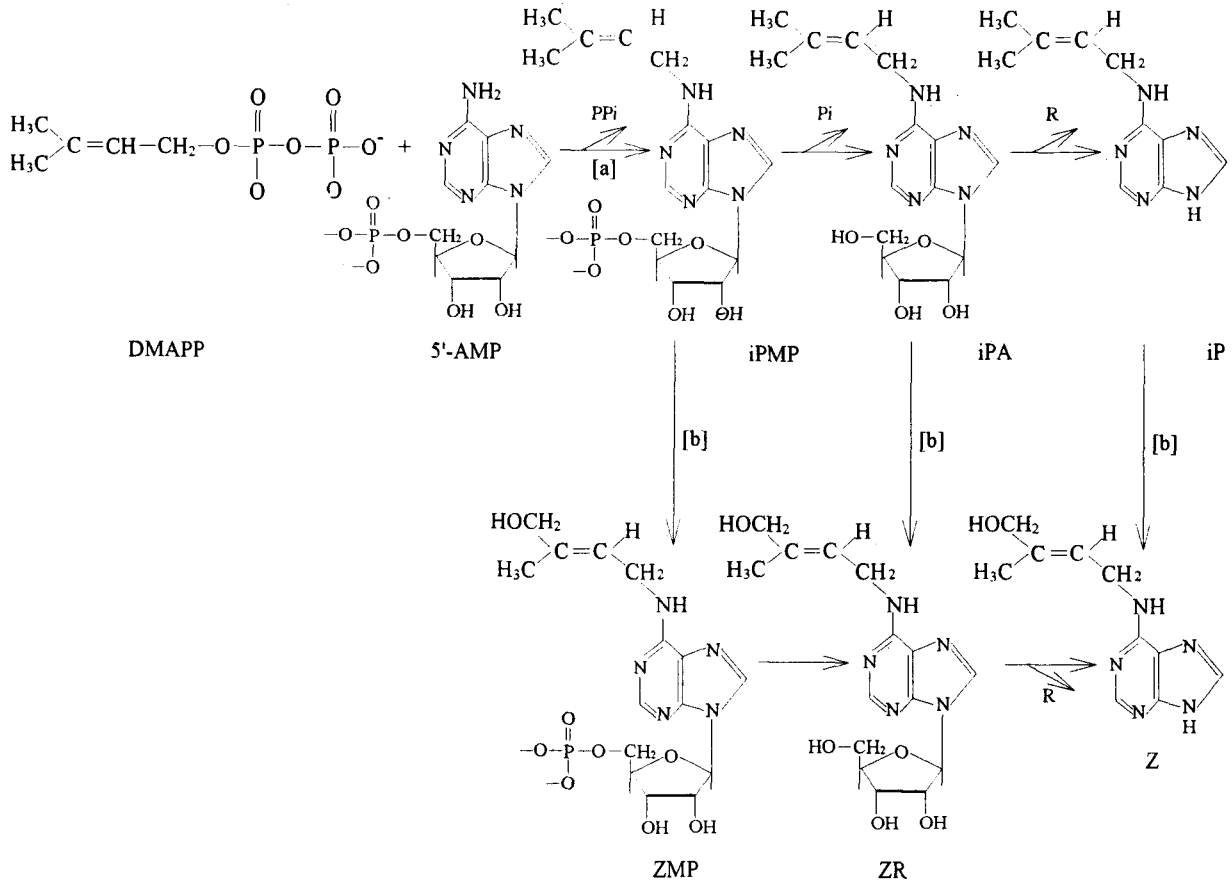


图2 细胞激动素的代谢

三、海藻细胞激动素的生物活性功能

1. 在海藻自身生长发育过程中的作用

Letham 等认为,内源细胞激动素的生理作用主要有以下五个方面:(1)具有活性的细胞激动素,当与某一分子结合时,可引起植物生长或其它生理反应;(2)作为贮存形式在需要时释放自由的细胞激动素;(3)当外源细胞激动素水平较高时,内源细胞激动素对毒素具有解毒作用;(4)当外源细胞激动素浓度低时,可形成失活产物;(5)与其它细胞激动素相互协同起作用(Letham *et al.*, 1983)。

细胞激动素在植物生长和发育的许多方面都起到重要作用(Skoog *et al.*, 1970; Van Staden *et al.*, 1979)。据文献报道,细胞激动素与海藻的生长和发育有很大关系,它不仅影响细胞的分裂和伸长、器官形成、顶端优势、呼吸和光合作用,而且还影响到总的细胞代谢过程(Mooney *et al.*, 1986)。

从大型藻类中得到的形态学证据包括细胞激动素在发芽、分枝、结果和衰老等过程中

的作用,所有这些作用过程对海藻的生长和发育都是极其重要的。Berglund(1969)研究结果证明,取自墨角藻和泡叶藻生长带的海水对实验培养海藻的生长有促进作用。Pedersen(1973)报道,在海藻生长最旺盛的10月,从取自墨角藻和泡叶藻生长带的海水中鉴定出含有6-(3-甲基-2-丁烯基氨基)嘌呤(即2iP),另外,在人造海水中添加2iP或激动素对养殖的其它海藻有促生长作用。有关内源细胞激动素对藻类的作用影响还有待于进一步研究。

2. 海藻细胞激动素对农作物的促生长效果

海藻肥对植物的作用已有许多报道,主要作用是提高农作物的产量(Steveni, 1992)、促进种子的萌发、增加抗性(Blunden *et al.*, 1978)、抗病虫害(Crouch *et al.*, 1993),以及增加土壤对无机成分的吸收和减少果实储藏的损失(Blunden *et al.*, 1978)。

早在1966年,Booth就提出,大多数农作物对海藻提取物的反应主要是由于海藻中细胞激动素的作用(Booth, 1966),在海藻及其提取物中也已确定了细胞激动素物质的存在(Brain *et al.*, 1973; Featonby-Smith *et al.*, 1983)。给正在生长的作物施用纯化的细胞激动素所取得的效果,与施用海藻提取物后观察到的结果极为相似(Biddington *et al.*, 1983)。细胞激动素对作物的促生长作用在小麦(Beckett *et al.*, 1990)、西红柿(Crouch *et al.*, 1992)、马铃薯(Blunden *et al.*, 1978)、莴苣和花椰菜(Abetz *et al.*, 1983)、各种水果和蔬菜(Blunden *et al.*, 1978)的生长实验中都已经得到了证明。

细胞激动素是一种有效的根部促生长因子,其作用在植物的早期生长阶段最强。海藻提取物无论是根部施用还是叶面喷施,都会对植物根部的生长有很大的影响作用(Biddington *et al.*, 1983; Blunden *et al.*, 1978; Finnie *et al.*, 1985)。

关于细胞激动素的作用也有不同报道,有人发现细胞激动素抑制了根部的伸长作用(Stenlid, 1982; Biddington *et al.*, 1983),以及抑制了侧根的形成(Torrey, 1976; Wrightman *et al.*, 1980)。另外也有人提出,细胞激动素的作用随其浓度而不同,较低浓度的玉米素($<10^{-6}$ mol/L)可以促进根部生长,而高于 10^{-6} mol/L浓度的玉米素则会起到抑制作用(Finnie *et al.*, 1985)。

尽管细胞激动素被认为是促进植物生长的主要原因(Tay *et al.*, 1985, 1987),但其作用的确切生理机制仍有待更深入的研究(Crouch *et al.*, 1992)

四、海藻细胞激动素的提取及鉴定方法

目前,鉴定海藻内源细胞激动素的存在,以及细胞激动素对藻类的作用主要采用两种方法(Mooney *et al.*, 1986):(1)提取、鉴定、色谱分析及生物分析;(2)研究细胞激动素对藻类的生理反应。

1. 提取方法

根据文献(Mooney *et al.*, 1984b; Featonby-Smith *et al.*, 1984)报道,海藻细胞激动素的提取方法一般按如下程序进行:

(1)鲜藻在80%乙醇中匀浆,于5℃提取;(2)加入不溶性的多乙烯基吡咯烷酮(Polyclar AT),进一步提取;(3)提取物经滤纸过滤,用80%乙醇洗涤沉渣;(4)将乙醇提

取物于 35℃ 真空干燥,再将其在 80% 乙醇中重新悬浮;(5)调节 pH 值至 2.5,用 Dowex 50W-X8 阳离子交换树脂提取出细胞激动素混合物;(6)浓缩的提取物中的各种成分做纸层析,用异丙醇:25%NH₄OH:水(体积比 10:1:1)混合液分离;(7)将层析谱干燥后,分成若干份置入瓶中,进行生物检测;(8)将具有生物活性的片段进行 HPLC 分析,确定其结构。

2. 鉴定方法

根据目前的研究文献,用于细胞激动素的生物分析方法主要有七种:

(1) 萝卜叶扩张分析法(Kuraishi, 1959);(2) 大麦叶感觉分析法(Kennde, 1964);(3) *Daucus acrota* 木质部分分析法(Letham, 1967);(4) *Amaranthus caudatus* 分析法(Biddington *et al.*, 1973);(5) 烟草愈伤组织和茎组织分析法(Murashige *et al.*, 1962);(6) 大豆组织分析法(Miller, 1963, 1965);(7) 黄瓜种子子叶分析法(Fletcher, 1982)。

其中,黄瓜种子子叶分析法是一种较为有效的方法。Fletcher 等(1971)首次用该方法来检测细胞激动素含量(Fletcher *et al.*, 1971),Dumbroff 和 Brown(1976)进一步确定了这是一种便利而灵敏的方法,能提供比其它方法更为线性化的结果。Brenner 等(1976)也发现该方法可以用来对细胞激动素作精确定量和鉴定,而且有人将这种生物检测方法与化学检测法结合,使之成为一种常规的鉴定细胞激动素生物活性的方法(Carnes *et al.*, 1973)。

参 考 文 献

- 范 晓、林美娇、张燕霞编,1989,海洋科学译报(世界海藻工业总览专辑),4:3—12。
- Abetz, P. and C. L. Young, 1983, The effect of seaweed extract sprays derived from *Ascophyllum nodosum* on lettuce and cauliflower crops, *Bot. Mar.*, 26: 487—492.
- Beckett, R. P. and J. Van Staden, 1990, The effect of seaweed concentrate on yield of nutrient stressed wheat, *Bot. Mar.*, 33: 147—152.
- Bentley-Mowat, J. A. and S. M. Reid, 1968, Investigation of the radish leaf bioassay, for kinetins and demonstration of kinetin-like substances in algae, *Ann. Bot. N. S.*, 32: 23—32.
- Berglund, H., 1969, Stimulation of growth of two marine green algae by organic substances extracted by *Enteromorpha linza* in unialgal and axenic cultures, *Physiol. Plant.* 22: 1069—1073.
- Biddington, N. L. and A. S. Dearman, 1983, The involvement of the root apex and cytokinins in the control of lateral root emergence in lettuce seedlings, *Plant Growth Regulator*, 1: 183—193.
- Biddington, N. L. and T. H. Thomas, 1973, Chromatography of five cytokinins on an insoluble polyvinylpyrrolidone column, *J. Chromatogr.*, 75: 122—125.
- Blunden, G., E. M. Jones and H. C. Passam, 1978, Effects of post-harvest treatment of fruit and vegetables with cytokinin-active seaweed extracts and kinetin solutions, *Bot. Mar.*, 21: 237—240.
- Booth, E., 1966, Some properties of seaweed manures, *Proc. Int. Seaweed Symp.*, 5: 349—357.
- Bradley, P. M. 1991, Plant hormones do have a role in controlling growth and development of algae, *J. Phycol.*, 27: 317—321.
- Brain, K. R., M. C. Chalopin and T. D. Turner, *et al.*, 1973, Cytokinin activity of commercial aqueous seaweed extract, *Plant Sci. Lett.*, 1: 241—245.
- Brenner, M. L., C. R. Andersen and A. J. Cihá, *et al.*, 1976, Relationship of endogenous plant hormone content

- to changes in source-sink relationships, In P-E Pilet(ed), 9th International Conference on Plant Growth Substances, Lausanne, 49—50.
- Carnes, M. G. , M. L. Brenner and C. R. Andersen, 1973, Rapid separation and identification of plant growth substances using high pressure liquid chromatography, In Y. Sumiki(ed), Plant Growth Substances, Hirokawa Publishing Co. , Tokyo, 99—110.
- Crouch, I. J. and J. Van Staden, 1992, Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants, *J. Appl. Phycol.* , 4: 291—296.
- Crouch, I. J. and J. Van Staden, 1993, Effect of seaweed concentrate from *Ecklonia maxima* (Osbeck) Papenfuss on *Meloidogyne incognita* infestation on tomato, *J. Appl. Phycol.* , 5: 37—43.
- De Nys, R. , P. E. Jameson and N. Chin *et al.* , 1990, The cytokinins as endogenous growth regulators in *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. (Phaeophyceae), *Bot. Mar.* , 33: 467—475.
- Dumbroff, E. B. and D. C. W. Brown, 1976, Cytokinin and inhibitor activity in roots and stems of sugar maple seedlings through the dormant season, *Can. J. Bot.* , 54: 191—197.
- Farooqi, A. H. A. , Y. N. Shukla, A. Shukla and D. S. Bhakuni, 1990, Cytokinins from marine organisms, *Phytochemistry* , 29: 2061—2063.
- Featonby-Smith, B. C. and J. Van Staden, 1983, The effect of seaweed concentrate and fertilizer on growth of *Beta vulgaris*, *Z. Pflanzenphysiol.* , 122: 155—162.
- Featonby-Smith, B. C. and J. Van Staden, 1984, Identification and seasonal variation of endogenous cytokinins in *Ecklonia maxima* (Osbeck) Papenf, *Bot. Mar.* , 27: 527—531.
- Finnie, J. F. and J. Van Staden, 1985, The effect of seaweed concentrate and applied hormones on *in vitro* cultured tomato roots, *J. Plant Physiol.* , 120: 215—310.
- Fletcher, R. A. and D. McCullagh, 1971, Cytokinin-induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons, *Planta* , 101: 88—90.
- Fletcher, R. A. , V. Kallidumbil and P. Steele, 1982, An improved bioassay for cytokinins using cucumber cotyledons, *Plant Physiol.* , 69: 675—677.
- Francki, R. I. B. , 1960, Manurial value of seaweeds; I. Effects of *Pachymenia himantophora* and *Durvillea antarctica* meals on plant growth, *Plant Soil* , 12: 297—310.
- Guern, J. *et al.* , 1981, Metabolism and molecular activity of cytokinin, Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. N. Y. , 1—162.
- Hall, R. H. , 1973, Cytokinins as a probe of developmental processes, *Ann. Rev. Plant Physiol.* , 24: 415—444.
- Hendry, N. S. , J. Van Staden and P. Allen, 1982, Cytokinins in citrus, I. Fluctuations in the leaves during seasonal and developmental changes, *Sci. Hort.* , 16: 9—16.
- Kende, H. , 1964, Preservation of chlorophyll in leaf sections by substances obtained from root exudate. *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 53: 1066—1967.
- Kuraishi, S. , 1959, Effect of kinetin analogs on leaf growth, *Scient. Pap. Coll. gen. Educ. Tokyo* , 9: 67—104.
- Letham, D. S. , 1967, Chemistry and physiology of kinetin-like compounds, *Ann. Rev. Plant Physiol.* , 18: 349—363.
- Letham, D. S. , 1978, Cytokinins. In: Letham, D. S. , P. B. Goodwin and T. J. V. Higgins(eds): *Phytohormones and related compounds. A comprehensive treatise*, Elsevier Biomedical Press (Amsterdam), 205—263.
- Letham, D. S. *et al.* , 1983, The biosynthesis and metabolism of cytokinins, *Ann. Rev. Plant Physiol.* , 34: 163—197.
- Matsubara, S. , 1980, Structure-activity relationships of cytokinins, *Phytochemistry* , 19: 2239—2253.
- Miller, C. O. , 1963, Kinetin and kinetin-like compounds. In: Peach, K. and M. V. Tracey(eds): *Modern methods of plant analysis*, Springer-Verlag, Berlin, 194—202.
- Miller, C. O. , 1965, Evidence for the natural occurrence of zeatin and derivatives. Compounds from maize which pro-

- mote cell division, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 54: 1052—1058.
- Mooney, P. A. and J. Van Staden, 1984a, Lunar periodicity of endogenous cytokinins in *Sargassum heterophyllum* (Phaeophyceae), *Bot. Mar.*, 27: 467—472.
- Mooney, P. A. and J. Van Staden, 1984b, Seasonal changes in the levels of endogenous cytokinins in *Sargassum heterophyllum* (Phaeophyceae), *Bot. Mar.*, 27: 437—442.
- Mooney, P. A. and J. Van Staden, 1986, Algae and cytokinins, *J. Plant Physiol.*, 123: 1—21.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant.*, 15: 473—497.
- Murofushi, N., A. Inoue and N. Watanabe *et al.*, 1983, Identification of cytokinins in root exudate of the rice plant, *Plant and Cell Physiol.*, 24: 87—92.
- Pedersen, M., 1973, Identification of a cytokinin, 6-(3-methyl-2-butenylamino) purine, in a sea water and the effect of cytokinins on brown algae, *Physiol. Plant.*, 28: 101—105.
- Quastel, J. H. and D. M. Webley, 1947, The effects of the addition to soil of alginic acid and other forms of organic matter on soil aeration, *J. Agric. Sci.*, 37: 257—266.
- Sanderson, K. J. and P. E. Jameson, 1986, The cytokinins in a liquid seaweed extract; could they be the active ingredients? *Acta Horticulturae*, 179: 113—116.
- Skoog, F. and D. J. Armstrong, 1970, Cytokinins, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 21: 357—384.
- Stenlid, G., 1982, Cytokinins as inhibitors of root growth, *Physiol. Plant.*, 56: 500—506.
- Steveni, C. M., 1992, Effect of seaweed concentrate on hydroponically grown spring barley, *J. Appl. Phycol.*, 4: 173—180.
- Tay, S. A. B., J. K. MacLeod and L. M. S. Palni *et al.*, 1985, Detection of cytokinins in a seaweed extract, *Phytochemistry*, 24(11): 2611—2614.
- Tay, S. A. B., L. M. S. Palni and J. K. MacLeod, 1987, Identification of cytokinin glucosides in a seaweed extract, *J. Plant Growth Regul.*, 5: 133—138.
- Torrey, J. G., 1976, Root hormones and plant growth, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27: 435—439.
- Van Staden, J. and J. E. Davey, 1979, The synthesis, transport and metabolism of endogenous cytokinins, *Plant, Cell and Environment*, 2: 93—106.
- Waaland, B. M. (Eds). *Plant growth substance*, 1985, Springer-Verlag, 257—262.
- Warning, P. F. *et al.*, 1981, *Growth and differentiation in plants* (3rd, Ed). U. K. Pergamon Press, 1—56.
- Williams, D. C., K. R. Brain and G. Blunden *et al.*, 1976, Plant growth regulatory substances in commercial seaweed extracts, *Proc. Int. Seaweed Symp.*, 8: 59—63.
- Wrightman, F. and K. V. Thimann, 1980, Hormonal factors controlling the initiation and development of lateral roots, *Physiol. Plant.*, 49: 13—20.
- Zhang, W., D. J. Chapman and B. O. Phinney *et al.*, 1991, Identification of cytokinins in *Sargassum muticum* (Phaeophyta) and *Porphyra perforata* (Rhodophyta), *J. Phycol.*, 27: 87—91.
- Zhang, W., H. Yamane and C. R. Spray *et al.*, 1992, Cytokinins from the tRNA of the red alga *Porphyra perforata* J. Ag., *Plant Cell Physiol.*, 33(2): 197—199.

CYTOKININS: THE FUNCTIONAL BIOACTIVE COMPOSITION IN SEAWEEDS*

Sun Biao, Fan Xiao, Zhou Yonghang

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

Man's use of seaweeds has a history of 2000 years. By the 1990's, cytokinins had been identified and separated from various seaweeds and commercial seaweeds extracts. Numerous researches showed that cytokinins in seaweeds have very important functional roles as promoters of terrestrial plant growth and of growth and development of seaweeds as endogenous hormones. Cytokinins can accelerate the division and extension of seaweeds cells and the transport of nutrients in cells.

This paper results of cytokinins studies, on their contents, distribution, chemical structure and metabolization, bioactive function in seaweeds, including their application to seaweeds and to crops. The methods for extraction and determination of cytokinins are checked and reported also.

Cytokinins exist in terrestrial and aquatic plants and are phytohormones. The content of cytokinins in seaweeds vary with the growth stage, species, position in seaweeds, and lunar periodicity. The chemical components of cytokinins in plant fall roughly into four kinds: purines, modified purines, urea (and amide) and aminopyrimidine. Most of them are derivatives of the purine ring with a replaced group at the fifth "C" site.

At present, two major approaches have been directed at establishing the presence and possible roles of endogenous cytokinins in seaweeds. They are a) extraction, chromatography and bioassay and b) study of the physiological responses of seaweeds to applications of cytokinins. There has been seven bioassays of cytokinins, in which the cucumber cotyledons method has proved to be more effective. Moreover this method can be combined with chemical assays and become a conventional method for identification of cytokinins activity.

* Contribution No. 3158 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.