植物营养与肥料学报 1999,5(2):106～114
Plant Nutrition and Fertilizer Science

CPPU 研究进展

侯 勇[①] 马国瑞
(浙江农业大学环资学院应用化学研究室,杭州 310029)
夏中梅 曾显斌
(四川省农业科学院植物生长调节剂研究中心,成都 610066)

摘要 N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea(CPPU)是细胞分裂素类的一种植物生长调节剂。其生理活性高于一般嘌呤型细胞分裂素,而且合成简便,成本低廉,被认为是玉米素的廉价替代品。近年对其作用机理和应用进行了广泛的研究。本文综述了 CPPU 的主要研究成果:(1)脲型细胞分裂素的分子结构与生理活性的关系;(2)CPPU 与 BA 等嘌呤型细胞分裂素的活性接合位点的研究;(3)CPPU 专性接合蛋白的研究;(4)CPPU 具有促进座果、果实的膨大以及诱导单性结实等生理作用。

关键词 CPPU 分子结构 生理活性 细胞分裂

自 1955 年 Miller 等发现了促进幼胚发育的活性物质 6－糠基嘌呤(KT)之后,细胞分裂素作为继生长素后的又一类植物激素,在生理学、园艺科学、组织培养等领域进行了十分广泛深入的研究[1]。细胞分裂素除了天然分离提纯的玉米素及其生物合成过程中的中间活性产物如二氢玉米素、玉米素核苷等外,还有人工合成的类似活性物质如 BA. SD8339[6-(benzylamino)-9-(2-tetradhydropyranyl)-9H-purine]等,这些具有细胞分裂活性的物质都属于嘌呤衍生物,其结构均为腺嘌呤在 N^6 位置的取代物,故也称嘌呤型细胞分裂素。

1966 年,Bruce 等以烟草茎髓细胞作材料,对 500 多种脲的衍生物进行活性试验,发现其中约有 300 种化合物能诱导细胞分裂[2]。此后,Takahashi 等以烟草愈伤组织为材料对 4-吡啶脲(4PU)衍生物的活性与结构的关系进行了研究,结果发现 CPPU[N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-pheuylurea,4PU 的一种衍生物]的活性比供试的任何一种嘌呤型细胞分裂素活性更高[3]。

本文综述了脲型细胞分裂素分子结构与其生理活性的关系;脲型细胞分裂素和嘌呤型细胞分裂素的活性接合位点的研究;CPPU 专性结合蛋白及其作用机理以及 CPPU 在农业生产中应用研究的进展。

1 4-吡啶脲衍生物结构与活性的关系

4PU 被鉴定有比二苯脲(DPU)高 100 倍的细胞分裂活性而受到人们的重视。接着又发现了 4PU 的一系列衍生物,其活性比 4PU 强得多。对这些衍生物的结构与活性的关系研究结果表明,吡啶脲型细胞分裂素其有效活性基团是 4－吡啶脲(4PU),而 3－吡啶脲或 2－吡啶脲及苯基基团对其活性的提高则无直接关系,但吡啶环上的 2 位取代则可强烈地增

① 现工作单位:四川省农科院情报所(FAO)中国 Agris 西南分中心

收稿日期:1997-10-31

加其细胞分裂活性(表 1)。CPPU 是 2 位氯取代产物,其诱导烟草愈伤组织的活性是 4PU 的 100 倍,是 BA 的 10 倍以上。而吡啶环上 3 位取代则有降低活性作用。对苯环上的取代衍生物进行活性比较,结果显示苯环上的间位氟取代对活性提高有促进作用,但苯环上的大多数取代以及烷基化则有降低活性的作用。进一步对 4PU 吡啶环在 2 位上的不同取代物比较表明,非极性孤对电子基团的取代显示了较高的活性,如 Cl、Br、F 等,而具极性孤对电子的基团取代则对活性有抑制作用,如 H, CH_3 等(表 1)。Okomato 等接着又做了 2、6 位吡啶取代衍生物的活性试验(表 2),发现 2、6 位二氯取代和 2、6 位二溴取代有很高的活性。对 4PU 的一系列衍生物的活性与结构的关系研究结果表明,脲型细胞分裂素特别是 CPPU 等具有生理活性高,合成简便的优点,比人们所熟知的嘌呤细胞分裂素更具有广泛的研究意义和开发前景[4]。

表 1　4PU 的 2 位吡啶取代的细胞分裂活性

Table 1　Cytokinin activity on callus production N-(2-substituted-4-pyridyl)-N'-phenylurea

2 位取代基(-X)	最佳浓度(mol/L)[1)]
-H(4PU)	4.7×10^{-7}
-CH3	4.1×10^{-7}
-Cl(CPPU)	4.0×10^{-9}
-Br	3.4×10^{-9}
-F	4.3×10^{-9}
$-CH_3$	3.6×10^{-9}
$-NH_2$	4.4×10^{-6}
$-OCH_3$	4.1×10^{-8}
-OH	4.0×10^{-7}
$-NHCOCH_3$	1.9×10^{-7}
-CN	4.2×10^{-9}

1) 将烟草培养在 MS 培养基中加入 1.1×10^{-5}mol/L IAA,培养 30 天后,根据组织的重量来确定其最佳浓度。

资料来源:Okamoto et al. 1981[4]

表 2　4PU 的吡啶基 2、6 位取代衍生物细胞分裂活性

Table 2　Cytokinin activity on callus production of N-(2.6-disubstituted-4-pyridyl)-N'-phenyluras

取代基 -X	取代基 -Y	最佳浓度(mol/L)
$-CH_3$	$-CH_3$	4.0×10^{-6}
-Cl	$-CH_3$	3.8×10^{-9}
-Cl	-Cl	$10^{-8}\sim10^{-13}$
-Cl	$-OCH_3$	$10^{-8}\sim10^{-9}$
-Cl	$-OCH_3$	3.7×10^{-8}
-Br	-Br	$10^{-9}\sim10^{-13}$

资料来源:Okamoto et al. 1981[4]

2　脲型和嘌呤型细胞分裂素活性接合位点的研究

脲型细胞分裂素与嘌呤型细胞分裂素(如 BA, Zeatin 等)在诱导细胞分裂、促进生长和

组织培养中芽的发生以及延迟衰老等方面有着十分相似的生物学活性，然而这两大细胞分裂素类物质是否有着相同的作用位点仍不明确。为此，不少学者对细胞分裂素颉颃物与这两大类活性物质之间的关系进行了研究。Kefford 等用萝卜叶圆片进行试验，结果证明 N－苯基－N'－4－溴苯基脲(BP)对这两类化合物的保绿效果均表现出明显的颉颃作用；Iwamura 用 BA 的强烈颉颃剂：环丁氨基－2 甲基吡咯(2－3－a)嘧啶(CP)对这两类物质进行对比试验亦得到类似结果[5~7]。

Kurosaki 和 Shudo 用 CP 和 BP 分别与不同浓度的 BA 和 CPPU 结合处理烟草细胞，以不加颉颃物的 BA 或 CPPU 处理愈伤组织最大生长量表示 100% 活性，当加入一定量的 CP、BP 后，其活性均明显被抑制。当再次提高 BA 或 CPPU 的浓度到某一阀值(triggers)时，这种抑制作用可被逆转，恢复到最大生理活性水平，而且两者均有着相似的浓度活性曲线。这表明 BA 的活性位点可为高浓度 CPPU 竞争性地占据，而 CPPU 的活性位点亦可被高浓度 BA 所竞争占据(competitively occupied)，两者存在着交叉的竞争性抑制作用。CP 或 BP 能同时抑制这两类化合物的活性。这些试验令人信服地说明这两类细胞分裂素具有相同的活性位置、作用方式和机理[8]。

3 CPPU 细胞分裂素专性结合蛋白的研究

细胞分裂素的广泛存在及其非凡的调节作用，促使人们对其调节机理作深入的研究。Nogue 等采用^{3}H－CPPU，通过光亲和标记在豌豆叶绿体的内囊体膜上鉴定出一种 46KDa (THy46)的细胞分裂素结合蛋白(CBP)。这种结合蛋白是脲型细胞分裂素的颉颃剂。这种标记肽蛋白在蓝雪叶烟草和菠菜内囊体膜上也得到证实，但在衣藻的内囊体膜上却未发现。采用不同的细胞分裂素颉颃剂对这种肽反应试验表明，脲类衍生物是光亲和标记最有效的竞争剂，其有效性的大小与其细胞分裂活性大小密切相关。通过增加 CPPU 浓度对这种肽光亲和标记的取代位置进行定量分析，表明两者间存在一个解离常数。嘌呤型细胞分裂素与脲型细胞分裂素相比，其竞争性要弱得多，但也与其各自的活性大小有关[9]。Nagata 和 Shudo 等采用^{3}H－CPPU 作为探针从黄化的绿豆幼苗中分离提取到一种高亲和的细胞分裂素专性结合蛋白(CSBP)。试验首先从黄化绿豆幼苗中提取完整细胞，再分别经 HPLC 阴离子交换柱(mono Q HR 5/5)，HPLC 脱水(phenylyses－superose HR5/5)以及 HPLC 分子筛(Superose 12HR 10/30)进行分离鉴定，发现三个色谱图上均存在一个 CPPU 专性活性高峰，而且这个活性高峰可完全被胰蛋白酶或热处理所破坏。这说明 CSBP(cytokinin specific binding protein)是以单体形式游离于整个黄化绿豆幼苗细胞中的。其表观分子量(apparent molecular weight)约为 21KDa，其斯卡查德图谱分析显示 CSBP 与 CPPU 结合常数(value association)为 $4\times10^{-10}mol^{-1}$，CSBP 结合位点为每个细胞 3000 个分子。CPPU 与 CSBP 的专性结合不仅可被过量的活性更高的脲型细胞分裂素竞争性取代，而且还可被嘌呤细胞分裂素所取代。但单个腺嘌呤、生长素或细胞分裂素核苷对位点的竞争则无影响。不同的细胞分裂素与 CSBP 亲和能力的大小与它们组织水平上的活性大小密切相关[10]。与 Erion 等人所报道的细胞分裂素结合蛋白相比，CSBP 作为细胞分裂素受体似乎更具合理性，比如非专性结合蛋白－腺嘌呤化合物代谢酶类就不适合于强亲和性 CPPU 等脲型化合物，也难以解释它们许多共同的生理生化反应[1,11~13]。

4　CPPU 在农业上的应用

CPPU 作为细胞分裂素类的一种新型植物生长调节剂具有比任何一种嘌呤型细胞分裂素更强的细胞分裂活性。其生理作用主要表现在:(1)促进细胞的分裂和器官的发生;(2)促进座果和果实的膨大;(3)诱导单性结实。

4.1　促进细胞分裂和器官发生

Bruce 等用烟草茎髓细胞为材料对 500 多种脲衍生物进行活性鉴定,筛选出约 300 种化合物能诱导细胞分裂。以烟草愈伤组织的最大鲜重来表示这些化合物的活性大小,发现 CPPU 诱导烟草愈伤组织生长的最适浓度为 0.001mg/L(4×10^{-9}mol/L)。在相同条件下 10^{-8}mol/L CPPU 所诱导的愈伤组织生长量是玉米素(10^{-5}mol/L)两倍。可见其活性是玉米素的千倍以上。BA 的最适生长浓度为 4×10^{-8}mol/L,其促进细胞分裂的活性仅为 CPPU 的十分之一[2]。此外,CPPU 在郁金香、百合花上的应用,可促进茎秆细胞数目和细胞层数显著增加,增强茎秆的机械强度,并加速了百合花鳞茎的生长发育[14]。CPPU 促进细胞分裂的活性还表现在它能强烈地诱导器官的再生和繁殖。Kefford 等采用不同的调节剂处理豌豆幼苗发现,CPPU 使芽的生长较对照(无调节剂)高 290%,而 KT 仅高 110%。如果在溶液中加入 10^{-5}mol/L 的 GA,可增强 CPPU 和 KT 的作用,使芽的增长分别达到对照的 620%和 340%[7]。Tanimoto 的研究证明 CPPU 可使蓝猪耳(torenia)茎外植体表皮细胞产生分生组织和不定芽,而且 CPPU 在 0.4mol/L 时,诱导芽发生的频率及形成分生组织的数目超过 5.0mol/L BA 的效果,其诱导器官发生的活性是 BA 活性的 12 倍以上[15]。此外,CPPU 显著促进百合花子鳞茎的发生,而同浓度的 BA 处理则几乎没影响。在杜鹃花中 0.5μmol/L CPPU 促进芽的繁殖能力接近 5μmol/L 的玉米素和 50μmol/L 的 2ip 异戊烯基嘌呤水平[14]。这说明 CPPU 诱导细胞分裂和促进器官发生的活性远远高于一般嘌呤类细胞分裂素的活性。

4.2　促进座果

使用植物生长调节剂来促进瓜果类果实座果,如 IAA、NAA、4-CPA、BA、2,4-D 等,已有众多报道[16,17]。近年来,随着 CPPU 在生产上的广泛应用,发现 CPPU 对柿、甜瓜、葡萄、西红柿、西瓜、苹果等多种作物有促进座果作用,而且对座果的促进效果比 BA 更显著,使用浓度更低[17~22]。Hayato 等使用不同调节剂对不同的西瓜品种进行座果试验,证明了 CPPU 强烈促进座果的特性(表 3)[20]。然而 CPPU 的效果与使用时期有直接关系,如在葡萄花前或花期使用 CPPU,则高度地促进座果,对果实的大小几乎没有影响或稍有影响,而在花后使用则不能促进座果,却显著地促进果实的膨大[23]。

4.3　促进果实的膨大

CPPU 能促进猕猴桃、苹果、葡萄、梨等果实的膨大以及提高瓜果类蔬菜的产量,在国外已作为果实膨大剂用于多种园艺作物[18,23~30]。Blank 等用 10mg/L CPPU 溶液于盛花后 20 天到 36 天浸猕猴桃幼果,处理果与对照相比生长快而且果大,所有的处理单果重比对照增加 27%~46%[25]。Itai 等用 100mg/L CPPU 喷柿花或幼果,取得显著膨大效果,而同浓度的 BA 则无效[31]。Nickel 分别用 2.5、5.0、10mg/L CPPU 溶液浸葡萄幼果,各处理葡萄单果重是对照果重的将近 2 倍,以 10mg/L CPPU 处理效果最好。当 CPPU 与 GA 混用,膨

表 3 几种细胞分裂素对西瓜座果的影响(%)

Table 3 Effect of cytokinin on the fruit-set of watermelon

西瓜品种 Cultivar	授粉子房			未授粉子房			对照(自然授粉)
	500mg/L BA	500mg/L KT	200mg/L CPPU	500mg/L BA	500mg/L KT	200mg/L CPPU	
Simaoh	80	45	95	0	0	85	35
Yamatocream	75	45	90	0	0	80	35
Benikadama	75	30	90	0	0	35	30
Kodama	80	40	100	0	0	90	35

资料来源:Hayate, Y et al. 1995[20]

大效果优于单独使用 CPPU 的效果,尤其是 5mg/L CPPU 与 100mg/L GA 混用,处理单果重是对照的 3 倍以上[29]。四川省农科院曾显斌等采用巨峰葡萄进行 CPPU 的膨大试验,也取得显著效果,并已开发出"大果灵"等 CPPU 系列产品,在园艺生产上得到广泛的使用。

CPPU 促进果实膨大的机理因作物而异。Jao 等对 CPPU 处理猕猴桃果实进行形态学研究证明 CPPU 延长了细胞分裂期,并促进了分裂期细胞的生长,通过增加细胞数量和增大细胞体积导致细胞层数和细胞总数增加从而促进果实膨大。但 CPPU 促进苹果(Maejima 1987)、梨(Hirata 1987,1988)等果实膨大却仅仅是增加了细胞数量。因此,CPPU 是通过刺激细胞分裂来促进果实生长。平田尚美等的研究认为 CPPU 处理能提高猕猴桃内源 CTK 和 GA 含量,通过调节内源激素水平促进果实的肥大。可见 CPPU 的作用机理存在两种认识:一种认为 CPPU 是通过调节 CTK 合成代谢,使细胞变成"CTK 自养的"来提高内源 CTK 水平,其作用是间接的;另一种认为 CPPU 与嘌呤型细胞分裂素有共同的活性位置,类似的作用方式和机理,其作用是直接的。特别是 CSBP 的深入研究和广泛存在有力地证明了这一点[27]。

4.4 诱导单性结实

使用生长素或赤霉素能诱导单性结实,而用细胞分裂素类物质诱导单性结实过去仅报道 SD8339 诱导无花果和葡萄形成无子果实[33~35]。近年来,用高活性的细胞分裂物质 CPPU 诱导单性结实引起了广泛的关注。1984 年,Ootake 等率先在葡萄花前使用 CPPU,并能形成 24%~44%的无子果[36]。Fujimoto 等,把甜瓜种植在没有蜜蜂或其它昆虫的塑料制的坑道里,用 CPPU 处理其果实,未见甜瓜结子。Shuichi 等对在开花期用 CPPU 喷猕猴桃花发育而成的果实。进行光学显微镜观察,发现所有的种子都只是由种皮构成,没有任何胚和胚乳发育的迹象,说明诱导了单性结实;而在开花前用 CPPU 处理,则发育成完全无子的果实;在花后用 CPPU 处理,则促进果实的膨大[36]。Takagi 等用 CPPU 诱导的无子枇杷能与对照达到同样大小,且比对照提早黄熟,而对其品质则无显著影响;在霜降之后进行 CPPU 处理,这种效果尤其显著[37]。Hayato 等用 BA,KT,CPPU 三种细胞分裂类物质对 4 种不同西瓜品种进行座果和单性结实试验,发现在花期用 200mg/L CPPU 喷未受精西瓜子房,可使西瓜座果率达 90%以上,而且所有品种的西瓜都不能形成正常的种子,仅是空的种子壳;而用 500mg/L 的 BA 或 KT 同样处理未受精的西瓜子房,则所有的品种完全不能座果。进一步的研究显示 CPPU 诱导无子西瓜,对西瓜的鲜重、糖分含量、果皮厚度均没有显著影

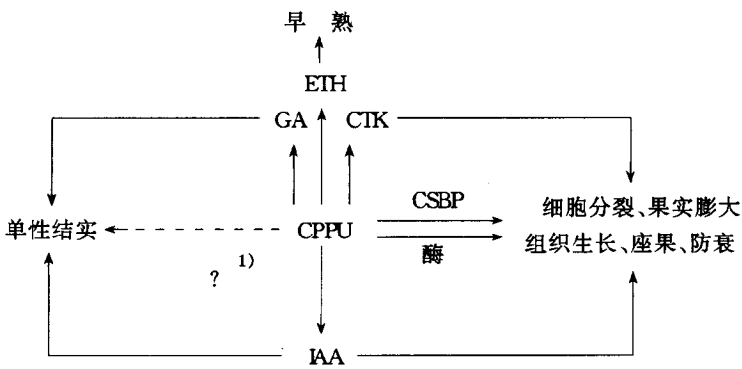
响,鲜重和糖分含量甚至略高于对照[20]。过去人们使用调节剂 IAA,NAA,4-CPA 等诱导无子西瓜,都因座果率低或果小甚至畸形而难以在实际生产中得到应用[35,38],CPPU 作为一种新型调节剂为无子西瓜的高产提供了现实性的可能。

关于 CPPU 促进未受精子房座果诱导单性结实的机理,Iiseop Kim 等采用黄瓜非单性结实品种 CV.Khira 和单性结实品种 CV.Pandex 以及它们的杂交 F_1 代进行单性结实试验,发现单性结实品种黄瓜子房中 IAA 的含量高于非单性结实子房中的 IAA 含量。在不受精的条件下,前者座果率达到 92%,而后者却很难座果。当用 CPPU 等生长调节剂处理未受精的子房后,增加了子房中 IAA 含量,使非单性结实品种和杂交 F_1 代黄瓜子房在未受精条件下座果率达到 60%以上,处理 3 天后的子房要比对照重 2～4 倍。表明 CPPU 处理,提高子房中 IAA 含量,可能是促使未受精黄瓜子房座果和诱导单性结实的关键[39～41]。

此外,Antognozzi 等对 CPPU 促进猕猴桃果实膨大期间的碳水化合物动态变化研究证明,CPPU 处理提高了果实中可溶性糖含量。经 CPPU 处理的猕猴桃,在果实发育的前期,葡萄糖含量显著增加;在淀粉累积期,果实中淀粉含量及 ADP-葡萄糖焦磷酸酶活性均高于对照果;在果实生长后期,淀粉含量开始下降。值得指出的是,CPPU 处理可使上述过程比对照开始得早或下降更快[24]。因而 CPPU 加速了猕猴桃果实的成熟,这可能与 CPPU 促进乙烯的生物合成有关[42]。

5 小　　结

CPPU 的生理效应,远不止上述几方面,如 CPPU 在防止萝卜空心和木质化及其保绿效应[43,44],打破芽的休眠以及在观赏园艺上都有广泛的应用。此外,在小麦、大麦、大豆、向日葵、洋葱等作物上用 15～50 mg/L CPPU 处理,能够延迟功能叶的衰老,显著地增加产量[45]。CPPU 的诸多生理效应与对植物内源激素水平的调控有着极为密切的关系,它对内源激素的影响大大超过一般细胞分裂素类物质。此外,CPPU 也可能通过直接调节酶活性来调控植株的生理生化过程。根据现有的资料绘制成 CPPU 作用示意图:



CPPU 作用机理示意图

The physiological effect of CPPU and its relationships with phytohormes

1):CPPU 可能直接诱导单性结实,但尚无文献报道

尽管近年来人们对 CPPU 的生理效应及其作用机制有了更多的认识,但是与一般 CTK

的研究相比,现有的研究尚是初步的,仍有许多是我们至今无法解释的。如 CPPU 属于苯脲类化合物,BA 是嘌呤类化合物,然而这两类化学结构完全不同的化合物却有着许多共同的生物学活性和生化反应,这促使人们不得不再对细胞分裂素的作用机理,植物生长发育及形态发生机理的理论探索作更深入细致的研究。其次 CPPU 作为新的一类细胞分裂素类物质,有许多方面是有别于 BA 等一般嘌呤类细胞分裂素类物质的。如在结构与活性的关系方面,苯脲衍生物分子中一个原子或原子团的改变可能是引起其活性常常是 10 倍、100 倍的增加或减少(如 DPU 变成 4PU 活性增加了 100 倍,而 4PU 变成 CPPU 活性又增加 100 倍以上),这却是一般嘌呤型化合物难以达到的;再如两者在单性结实方面的差异等。对这些问题研究在理论上将有助于人们正确认识细胞分裂素的作用机理。在实践上,有助于人们发现新的活性更高、成本更低的化合物,更有效地控制植物的生长和发育,促进 CTK 在园艺学生产及生物技术研究中更广泛的应用。

在今后的研究工作中,以下几方面值得探索和深入研究:

1) CPPU 受体蛋白的进一步分离,探明其作用位点和机理;

2) 脲型细胞分裂素的生理活性与其结构密切相关,探明其机制,寻求更有效的活性物质;

3) CPPU 促进碳水化合物的累积和运输、果实的膨大等生理效应与植物的矿质营养的关系等。

参考文献

1 Momotani E and Tsuji H. Isolation and characterization of a cytokinin-binding proteinfrom the water-soluble fraction of tabacco leaves. Plant cell physiology, 1992, 33:407~412.

2 Bruce MI and Zwar JA. Cytokinin activity of some substituted urea and thioureas. Proc. Roy. Soc., B. 1966, 165:245~265.

3 Kakahashi S, Shudo K, Okamoto T, yamada K and Isogai Y. Cytokinin activity of N-phenyl-N-(4-pyridyl) urea derivatives. Phytochemistry, 1978, 17:1201~1207.

4 Okamoto T, Shudo K, Tkahashi S, Kawachi E and Isogai Y. 4-pyridylureas are surprisingly potent cytokinins. The structure-activity relationship. Chem. Pharm. Bull, 1981, 29:395~398.

5 Iwamura H, Ito T, Kumazawa Z and Ogawa T. Synthesis and anticytokinin activty of 4-substituted-7-(β-D-ribofuranosyl) purrolo[2, 3-d] pyrimidines. Phytochemistry, 1975, 14:2317~2321.

6 Iwamura H, Masuda N, Koshimizu K and Matsubara S. Cywokinin-aganistic and antagonistic activties of 4-substiruted-2-methyl-pyrrolo[2, 3-d] pyrimidines, 7-deaza analogs of cytokinin-active adenine derivarives. Pytochemistry. 1979, 18:217~222.

7 Kefford NP, Zwar JA and Bruce MI. Antagohism of benzylurea. "Biochemstry and ohysiology of plant growthsubstances." Runge press, Ltd., Ottawa, 1968, 61~69.

8 Kurosaki F, Takahashi S, Shudo K, Okamoto T and Isogai T. Structural and biological links betweenurea-and purine-cytokinins. Chem. Pharm. Bull, 1981, 29:3751~3753.

9 Nogue F, Mounet R, Lalov M, Smith AR et al. Specific photoaffinity labelling of thylakoid membrane protein with an azideo-cytokinin agonist. Plant Growth Regulation, 1996, 18:1~2, 51~58.

10 Nagate R, Kawachi E, Hashimoto Y and Shudo K. Cytokinin-specific binding protein in etiolated mungbean seedlings. Biochemical and Biophysical Research Comunications. 1993, 191:543~549.

11 Erion JL and Fox JE. Purification and properties of a protein which binds cytolinin-active 6-substituted purines. Plant physiol., 1981, 67:156~162.

12 Romanov GA, Taran VY and Venis MA. Cytokinin-binding protein from maize shoots. J. Plant Physiol., 1990, 136:208

~212.

13 Sakai S and Kamei N. Purifition of a soluble cytokinin-binding protein from etiolated mung bean seedlings. Biosci. Biotech. Biochem., 1992,56:504~507.

14 Watanabe H. The use of growth regulators applied to stem cuttings of lilies. Bull. Agr. Exp. Sta., 1989, 20:67~71.

15 Tanimoto S. Plant Cell Physiol. 1982,23:1371.

16 Terada T and Masuda K. Parthenocapy of watermelon by hetero auxin. Agri. And Hort., 1941,15:458~468.

17 Yamamuro K. Effect of growth regulators on fruit setting of watermelon. Bull, Ibaraki. Exp. Sta., 1978, 7:1~15.

18 Greene DW. A comparison of the effect of several cytokinin on apple fruit set and fruit quality. Act. Hort., 1993,329:144~146.

19 Hasegawa K, Kuge N, Mimura T and Nakajima Y. Effect of KT-30 and GA3 on the fruit set and the fruit growth of persimmon cvs. Saijo and Hiratanenashi. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 1991, 60:19~29.

20 Hayata Y, Niimi Y and Iwasaki N. Inducing pathenocarpic fruit of watermelon with plunt biorefuletors. Acta. Hort., 1995, 394:235~240.

21 曾显斌,王家银. KT-30促进巨峰葡萄果实膨大试验. 中国果树, 1994, 2:49.

22 Sugiyama N, Yamaki YT. Effect of CPPU on fruit growth in Japenese persimmon. Sci. Hort., 1995, 60:337~343.

23 Louis G, Nickell LG. The effect of N-(2-chloro-4-pyridyl)-N -phenylurea and 3-chloro-benzyl eater of dicamba on the growth and sugar of grapes. Act. Hort., 1986, 179:805~816.

24 Antognozz EB, Attidtelli A, Famiani F, Moscatello S, Stanica F and Tombesi A. Influence of CPPU on carbohydrate accumulation and meteboliam in fruits of Actinidia deliciosa(A. Chev.) Sci. Hort., 1996,65:37~47.

25 Blank RH, Richardson AC, Oshima K, Hampton RE, Olson MH and Dawson TE. Effect of a forchlorfenuron dip on kiwifruit fruit size. New Zeal. J. Crop and Hort. Sci., 1992, 20:73~78.

26 Iwahori S, Tominagda S and Yamasaki T. Stimulate on of fruite growth of kiwifruit *Actinidia chinensis* planch, by N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea, a diphenylurea derivative cytokinin. Scientia Horticulturae, 1988, 35:109~115.

27 Jao J, Ohara H, Matsui H and Hirata N. Physiological studies of developing fruit of chinese gooseberry (*Actinidia chinensis* planch.). Tech. Bull. Fac. Hort. Chiba Univ., 1991, 44:263~267.

28 Ogata R, Saito T and Oshima K. Effect of N-phenyl-N'-(4-pyridyl)urea(4-pu) on fruit size: Apple, Japanese pear, grapevine and kiwifruit. Acta Hort., 1988, 18:1~2, 51~58.

29 Nickell LG. The effict of N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea on grape and other crops. Plant Growth Regulat. Soc. Amer., 1986, 13:236~241.

30 Banno K, Hayashi S and Tannbe K. Effect of KT-30 spray on the growth and quality of pear fruit. Abstr. Jpn. Soc. Hort. Sci. Autumn Meeting, 1986, 55:522.

31 Itai A, Tannbe K, Tamura F, Susaki SY, Onemori K and Sugiura A. Synthetic cytokinin control persimmon fruit shape, size, and quality. J. Hort. Sci., 1995,70:867~873.

32 曾显斌,王家银. KT-30提高西瓜座果率试验. 长江蔬菜, 1993, 6:18.

33 Audus L. Plant growth substances. Leonard Hill, London, 1963.

34 Crane JC and Van Overbeak J. Kinin-induced parthenocarpy in the fig, Ficus calica L. Science, 1965, 147:146~146.

35 Weaver RJ, Van Overbeek J and Pool RZM. Effect of kinins on fruit set and developent in Vitis vinifera. Hilgardia, 1996, 37:181~201.

36 Shuichi I, Shigeto T and Takenori Y. Stimulation of fruit growth of kiwifruit (Actinidia chinensis planch.) by N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea-derivative cytolinin. Sci. Hort., 1988, 35:109~115.

37 Takagi T, Mukai H, Ikeda R and Suzuki T. Effect of application of gibbllic acid and N-(2-Cholro-4-phridyl)-N'-phenylurea on the enlargement of frost-induced seedless fruit of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) J. Japen. Soc. Hort. Sci., 1994, 62:733~738.

38 Terada T and Masuda K. Parthenocapy of watermelon by single or complex application of plant hormones. Agri. And Hort., 1941, 15:458~468.

39 Ilseop K, Hiroshi O and Kunimitsu F. Endogenous levels of IAA relation to parthnocarpy incucumber (*Cucumis sativus*

L.). 1992.

40 Ilseop Kin Yeoung Y, Han K, Kim IS, Yeoung YR, Hank P. Changes in endogenous hormones during development of parthenocarpic and seeded fruit in *Cucumis sativus* L. Journal of the Korean Society for Horticultrual Science, 1995, 36: 4,460～464.

41 Ilseop Kim, Okubo H, Fujieda K. Studies on parthenocarpy in *Cucumis sativus* L. IV. Effects of exogenous growth regulation on induction of parthenocarpy and endogenous houmine levels in cucumber ovaries. Journal of the Korean Society for Horticultural Science. 1994, 35:3, 187～195.

42 Li CJ, Bangerth F. The possible role of cytokinins, ethylene and idoleaceticacid in apical dominance. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, Dordrecht, Netherlands; Kluwer Academic publishers, 1992, 13:431～436.

43 梅传生，张金渝，汤日圣. 4PU-30对水稻叶片的保绿效应. 植物生理学通讯，1989，1:17.

44 Yasutaka kano, Fukuok N. Suppressive effects of CPPU on lignification of xylem parenchymatous cells and on hollowing in the root of Japanese radish(*Raphanus sativus* L.). Sci.Hort., 1996, 65:117～124.

45 Karanov E, Ilive L, Georgiev GTS, Tsolova M, Alexieva V and Puneva I. Physiology and application of phenylurea cytokinins. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic publishers, 1992, 13:842～851.

ADVANCES IN CPPU RESEARCH

Hou Yong Ma Guorui

(*Zhejiang Agricutural Univ., Coll. of Sources and Enviornment, Applied Chemistry Study Office, Hangzhou* 310029)

Xia Zhongmei Zeng Xianbin

(*Sichuan Academy of Agricutural Sciences, Plant Growth Regulator Res. Center, Chengdu* 610066)

Abstract N-(2-chlor-4-pyridyl)-N'-phenylurea (CPPU), a newly developed plant growth regulator, possesses a higher cytokinins activity than any other adenine-type cytokinins. It is considered to be an ideal substitute for zeatin in agriculture use in view of its simplicity and low cost in chemical synthesis and its higher activities in promoting cell division, fruit setting and inducing parthenocarpy. Recently, many researchers have been paying more attention to its physiological mechanism and agricultural application. The latest advances in CPPU research are comprehensively reviewed in the present article: (1) Relationship between molecular structure and physiological activity of urea-type cytokinin; (2) The active binding sites of urea-type and adenine-type cytokinins; (3) The isolation of cytokinin-specific binding protein; (4) Agricultural application of CPPU.

Key words CPPU Molecular structure Physiological activity Cell division