

## 6-甲氧基-2-并噁唑啉酮的一些生理作用

陈汝民

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

**摘要** 已有研究证实, 6-甲氧基-2-并噁唑啉酮(6-methoxy-2-benzoxazolinone, MBOA)是引起玉米胚芽鞘向光性运动的主要物质。本文采用生物测定和HPLC分析等方法, 对MBOA的生理作用特点做进一步的探讨, 结果表明: 1. 光刺激下收集的胚芽鞘分泌物主要成份是MBOA, 该物质明显抑制鸡冠花和水芹下胚轴的伸长。2. 将MBOA与IAA混合处理胚芽鞘, 产生相互拮抗的效果。3. 单侧放置含MBOA琼脂块能引起去顶胚芽鞘弯曲生长。4. 伤害胁迫使胚芽鞘MBOA含量增加。因此, MBOA不仅是引起植物向光性运动的物质, 也是与抗伤害胁迫有关的天然抑制物质, 其生理功能之一是的生长素的作用相互拮抗, 并抑制植物生长。

**关键词** 玉米胚芽鞘; MBOA; IAA; 向性运动; 伤害胁迫

**中图分类号** Q945.7

## PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF 6-METHOXY-2-BENZOXAZOLINONE (MBOA) FROM MAIZE COLEOPTILE

Chen Rumin

(South China Normal University, Guangzhou 510631)

**Abstract** Some experiments had proved that 6-methoxy-2-benzoxazolinone (MBOA) was the main substance in phototropism of maize coleoptile. The physiological effects of MBOA were studied by using the methods of bioassay and HPLC. The results showed that: 1. The growth rate of hypocotyl of cress and cockscomb were inhibited obviously when treated with the substance excreted from maize coleoptile. The main component of the substance was MBOA. 2. Antagonistic effects was found when the maize coleoptiles were treated with IAA and MBOA in combination. 3. When an agar piece containing MBOA was placed on unilateral side of coleoptile with tip exised, the coleoptile could bend to growth. 4. The content of MBOA increased when maize coleoptile was injured. It was shown that MBOA was the natural inhibitor which played important function in inducing plant phototropism as well as in protection against injury. It can be concluded that MBOA is a substance that antagonizes IAA and inhibits the plant growth.

**Key words** Maize; Coleoptile; 6-methoxy-2-benzoxazolinone; IAA; Phototropism; Injury stress

本研究在日本筑波大学应用生物化学系 Hasegawa 教授指导下完成, 特此致谢。

1997-12-22 收稿; 1998-07-02 修回

进入80年代以来,日本植物生理学家 Hasegawa<sup>[1-3]</sup>以萝卜幼苗为材料,发现单侧蓝光刺激引起幼苗向光侧积累较多的抑制物质,并确认抑制物质的积累是引起植物向光性运动的主要原因,他和 Bruinsma<sup>[4,5]</sup>一起提出了植物向光性运动是由于单侧光引起抑制物质分布不均匀而产生的新学说。1992年 Hasegawa<sup>[6]</sup>报道从光下生长的玉米胚芽鞘中分离出抑制物质 6-methoxy-2-benzoxazolinone (MBOA),并发现该物质对生长素的生理活性有抑制作用。本研究室以玉米胚芽鞘为材料的研究结果证实,单侧光刺激引起胚芽鞘两侧的抑制物质 MBOA 分布不均匀是胚芽鞘向光性运动的主要原因<sup>[7]</sup>。为了进一步了解 MBOA 的生理特性以及外界因素对其合成的调节,本文对光暗处理或伤害后,玉米胚芽鞘分泌物中的中性和酸性部分进行分离纯化,对其中的主要成份 MBOA 含量的变化进行了分析,同时采用生物测定和 HPLC 分析方法,对该物质的生理活性及其在植物生长中的某些生理作用进行了初步探讨。

## 1 材料和方法

**植物材料和培养** 玉米 (*Zea mays* L. cv. Canadian Rocky Bentam 85, Kaneko Seed Co., Japan) 胚芽鞘培养方法见文献<sup>[7]</sup>。

**胚芽鞘分泌物质的收集** 用琼脂块收集:切取玉米胚芽鞘顶端约 2 cm 切段,插于收集器的刀片上,插入的深度为 0.3 cm,胚芽鞘切段的基部与琼脂块接触,将插好的样品置于单侧蓝光照射或暗条件下(伤害液收集),定时取出琼脂块并立即置于冷丙酮中,于 -30℃ 冰柜中保存。

**生长素和抑制物质的分离** 材料加入适量磷酸缓冲液 (pH7.5) 后研磨成匀浆, 2 500 × g 离心,上清液用减压浓缩仪除去丙酮,水相部分用等量醋酸乙酯萃取 3 次,将醋酸乙酯蒸发至干后用少量丙酮复溶,再用氮气吹干,此为中性部分的物质。将萃取后的水相部分的 pH 用磷酸调至 2.8,然后用醋酸乙酯萃取,以后做法与前相同,将两部分提取物(以下称为样品)置于 -30℃ 冰柜中保存待测。

**高压液相色谱仪分析** 将上述样品用 50% 乙腈溶解后,用 HPLC 进行分析,溶媒为 50% 乙腈,流速为 1 ml min<sup>-1</sup>,采用 6.0 × 150 mm 柱 (GOLF PAK, Waters),保留时间为 6.8 min,荧光分析的波长为 Ex: 280 nm, Em: 355 nm,可通过曲线查出抑制物质的含量。

**生物测试方法** 不同浓度样品液滴入含滤纸培养皿(直径为 27 mm)中,滴至完全湿润,鸡冠花和水芹种子用蒸馏水洗净后置于滤纸上,每个培养皿放 12 粒,将培养皿置于塑料盒并铺上保鲜纸,于 25℃ 暗条件下培养 3 d 后测量下胚轴长度。

**微量注射法** 用微量注射器(玻璃针口径为 0.01 mm)将不同浓度的样品注射入胚芽鞘的薄壁细胞层,注射部位离顶端约 1.5 cm,注射量为 0.5 μl。注射后置于暗条件下培养,并于不同时间测定胚芽鞘的弯曲度。

## 2 结果

### 2.1 MBOA 抑制鸡冠花和水芹下胚轴的伸长

用不同浓度的 MBOA 溶液和样品液培养鸡冠花和水芹幼苗,其下胚轴的伸长均受到不同程度的抑制,从表 1 可见,10<sup>-6</sup> mol/L MBOA 处理水芹和鸡冠花时已出现明显的抑制现象,与对

照相比, 水芹和鸡冠花下胚轴的长度分别比对照减少了 37.9% 和 31.7%, 表明水芹比鸡冠花对 MBOA 更敏感。但采用高浓度 MBOA ( $10^{-3}$  mol/L) 处理水芹时则出现抑制减弱的现象, 其原因尚不清楚。用琼脂块收集了 20 株胚芽鞘 (约 0.5 g) 向光侧的分泌物进行生物测定, 结果亦表现对水芹和鸡冠花下胚轴生长有明显抑制作用 (表 2), 其中稀释 10 倍液处理已使水芹下胚轴长度减少了约 25%。试验结果表明, 光诱导下收集的胚芽鞘分泌物样品中含有较多的生长抑制物质, 这种物质的主要成份是 6-methoxy-2-benzoxazolinone<sup>[7]</sup>。

## 2.2 外施 MBOA 能产生与向光性运动相同的效果

用微量注射法, 于胚芽鞘离顶端 1.5 cm 部位的一侧注射 MBOA 溶液, 对胚芽鞘注射部位的生长产生强烈的抑制作用 (图 1), 与对照相比, 胚芽鞘曲度增加约 10 倍, 产生弯曲的时间比光刺激后出现弯曲生长所需要的时间早, 弯曲的曲度随 MBOA 的浓度增加而增加,  $10^{-3}$  mol/L MBOA 处理后 5 h, 曲度达到  $36^\circ$ , 近似于光刺激下胚芽鞘弯曲的曲度。该结果表明, 外施 MBOA 能产生与向光性刺激相似的效果。

表 1 不同浓度 MBOA 处理对水芹和鸡冠花幼苗下胚轴伸长(mm)的影响  
Table 1 Effects of different concentrations of MBOA on the growth of hypocotyl (mm) in the seedlings of cress and cockscomb

	MBOA 浓度 MBOA concentration (mol/L)						
	0	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$
水芹 Cress	15.3±1.1	12.0±0.8	9.5±1.0	6.8±0.3	5.1±0.9	5.3±0.4	0.5±0.0
鸡冠花 Cockscomb	12.6±0.8	10.3±1.1	8.6±0.8	7.2±0.9	5.0±0.3	3.3±0.6	1.5±0.2

n=106

表 2 不同稀释倍数的玉米胚芽鞘分泌物对水芹和鸡冠花幼苗下胚轴伸长(mm)的影响  
Table 2 Effects of different concentrations of maize coleoptile excretion on the growth of hypocotyl (mm) of cress and cockscomb

	伤害后的分泌物 Excretion from injury			光诱导下的分泌物 Excretion under light induction		
	0	稀释 10 倍 dilution	稀释 20 倍 dilution	0	稀释 10 倍 dilution	稀释 20 倍 dilution
	Control	10 times	20 times	Control	10 times	20 times
水芹 Cress	13.2±0.9	9.8±1.1	11.2±1.0	13.8±0.9	8.8±0.8	10.5±0.8
鸡冠花 Cockscomb	11.5±0.6	9.0±0.7	10.0±0.8	11.5±0.6	8.5±0.5	9.3±1.0

每样品取自 20 株 (0.5 g) 玉米胚芽鞘分泌物。0.5 g of excretion collected from 20 coleoptiles for each sample.

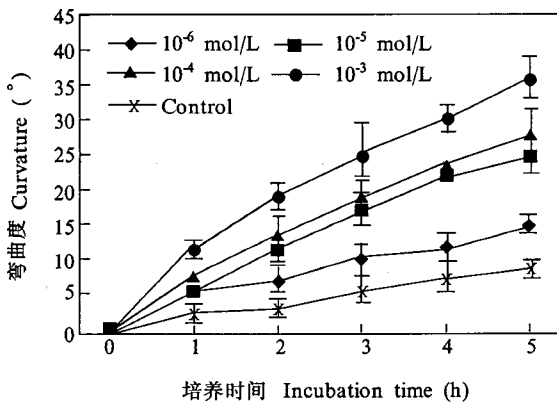


图 1 外施 MBOA 后, 玉米胚芽鞘弯曲生长的经时变化

Fig.1 Time course of curvature change in maize coleoptiles treated with MBOA

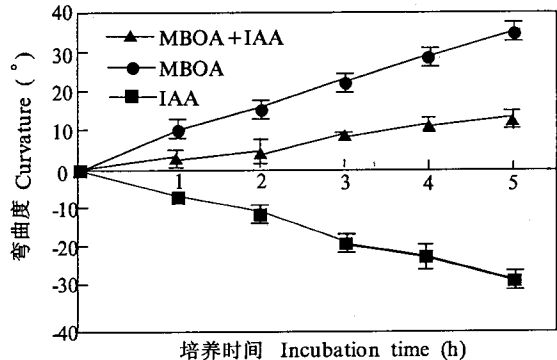


图 2 MBOA 与 IAA 单独或混合注射入胚芽鞘一侧的薄壁组织后, 胚芽鞘曲度的经时变化

Fig. 2 Time course of curvature change in maize coleoptile, MBOA ( $10^{-3}$  mol/L) and IAA ( $10^{-4}$  mol/L) in combination (MBOA:IAA=1:1) or either alone were injected into one side of parenchyma of maize coleoptiles.

### 2.3 MBOA 能拮抗 IAA 的生理作用

为了进一步了解 MBOA 的生理作用, 本研究将 MBOA 与 IAA 按不同比例混合, 采用微量注射法和生物测定

法, 对混合后产生的生理效果进行分析。从表 3 可见, 当  $10^{-3}$  mol/L MBOA 与  $10^{-4}$  mol/L IAA 按 1:1 混合使用时, 玉米胚芽鞘切段的生长明显慢于 IAA 处理, 但快于 MBOA 处理。当  $10^{-3}$  mol/L MBOA 与  $10^{-5}$  mol/L IAA 按 1:1 混合使用时, 生长速率与对照基本持平。另外, 用  $10^{-3}$  mol/L MBOA 与  $10^{-4}$  mol/L IAA 按 1:1 混合后注射入玉米胚芽鞘, 弯曲的曲度明显比单独使用 MBOA 小, 但又没有出现单独使用 IAA 时的逆弯曲(图 2), 本结果表明, MBOA 在一定程度上逆转 IAA 的生理效应。

### 2.4 伤害引起 MBOA 增加

不仅蓝光刺激能引起 MBOA 含量增加, 伤害刺激也能引起 MBOA 含量增高, 在黑暗条件下收集受伤害玉米胚芽鞘分泌物, 经萃取纯化后, 用 HPLC 分析, 其结果表明分泌物中 MBOA 的含量很高(图 3), 而且随着时间延长, 分泌的 MBOA 也逐渐增多, 由此看来, 伤害对 MBOA 的合成也具有刺激作用。如果将收集有分泌物的琼脂块置于去顶胚芽鞘的一侧, 并将材料置于暗条件下继续培养, 去顶胚芽鞘也出现弯曲生长<sup>[7]</sup>。

## 3 讨论

MBOA 是 Hasegawa<sup>[6]</sup> 从光生长玉米胚芽鞘中分离获得, 并发现该物质参与调节胚芽鞘的向光性运动。本文在 Hasegawa 研究成果的基础上, 对 MBOA 的生理作用做了进一步的探讨, 初步结果表明: 1. MBOA 是一种生长抑制物质, 它不仅抑制玉米胚芽鞘的生长, 而且抑制其他植物, 如鸡冠花、水芹幼苗下胚轴的生长。如果用琼脂块收集受光刺激后的玉米胚芽鞘分泌物, 并将琼脂块置于去顶胚芽鞘的一侧, 则该侧生长受到抑制并产生类似于向光性刺激后出现的弯曲生长现象。2. 在黑暗条件下生长的玉米胚芽鞘也含有 MBOA, 在受到光刺激或伤害时, 含量明显增加, 因此, MBOA 很可能也是一种与抗伤害有关的天然物质, 在植物受到伤害时大量合成, 起到保护的作用。本研究将暗条件下收集的, 含伤害分泌物的琼脂块置于去顶胚芽鞘的一侧, 结果使胚芽鞘出现明显的弯曲生长, 用 HPLC 分析表明, 分泌物中主要的成份是 MBOA。3. 当 MBOA 与 IAA 混合使用时, 明显削弱 IAA 和 MBOA 的作用, 本研究结果与前人一致, 即 MBOA 和 IAA 是相互拮抗的物质。

表 3 MBOA 和 IAA 单独或混合使用对玉米胚芽鞘切段生长的影响  
Table 3 Effects of MBOA and IAA treated alone or in combination on the growth of maize coleoptile

	MBOA ( $10^{-3}$ mol/L)	IAA ( $10^{-4}$ mol/L)	MBOA+IAA ( $10^{-3}$ mol/L+ $10^{-4}$ mol/L)	MBOA+IAA ( $10^{-3}$ mol/L+ $10^{-5}$ mol/L)	H <sub>2</sub> O
胚芽鞘切段长度 (mm) Segment length of coleoptile	11.09±0.82	18.52±1.11	15.89±1.33	12.86±1.21	12.33±1.15

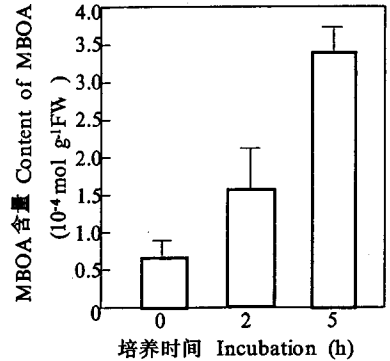


图 3 玉米胚芽鞘分泌液的 HPLC 分析  
Fig. 3 HPLC analysis of excretion from maize coleoptile segments

## 参考文献

- 1 Hasegawa K, Miyamoto K. Raphanusol A: a new growth inhibitor of light-grown radish seedlings. *Plant Cell Physiol*, 1980, 21:363-366
- 2 Hasegawa K, Hase T. Raphanusol B: a growth inhibitor of light-grown radish seedlings. *Plant Cell Physiol*, 1981, 22:303-306
- 3 Hasegawa K, Noguchi H, Iwagawa T et al. Phototropism in hypocotyls of radish. I. Isolation and identification of growth inhibitors, cis- and trans-raphanusanins and raphanusamide, involved in phototropism of radish hypocotyls. *Plant physiol*, 1986, 81:976-979
- 4 Bruinsma J, Karsen C M, Benschop M et al. Hormonal regulation of phototropism in the light-grown sunflower seedlings, *Helianthus annuus* L. immobility of endogenous indoleacetic acid and inhibition of hypocotyl growth by illuminated cotyledons. *J Exp Bot*, 1975, 26:411-418
- 5 Bruinsma J, Hasegawa K. A new theory of phototropism — its regulation by a light-induced gradient of auxin-inhibiting substances. *Physiol Plant*, 1990, 79:700-704
- 6 Hasegawa K, Togo S, Urashima M et al. An auxin-inhibiting substance from light-grown maize shoots. *Phytochemistry*, 1992, 31:3673-3676
- 7 陈汝民. 玉米胚芽鞘向光性运动的一些特性. *热带亚热带植物学报*, 1998, 6(4):323-328