

## 玉米胚芽鞘向光性运动的一些特性

陈汝民

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

**摘要** 利用云母片分隔、HPLC 分析等方法研究了玉米胚芽鞘向光性运动的特性。云母片阻隔生长素的移动后并不能阻止胚芽鞘的向光性弯曲。若单侧伤害胚芽鞘则能引起类似于向光性的弯曲生长。单侧施加伤害分泌物亦能使胚芽鞘产生弯曲。HPLC 分析表明, 蓝光诱导和机械伤害后产生的物质主要是 6-methoxy-2-benzoxazolinone。

**关键词** 玉米; 胚芽鞘; 向光性运动; 抑制物质; 6-甲氧基-2-苯并噁唑啉

**中图分类号** Q947.8

## SOME CHARACTERISTICS OF PHOTOTROPISM IN MAIZE COLEOPTILES

Chen Rumin

(South China Normal University, Guangzhou 510631)

**Abstract** The characteristics of phototropism in maize coleoptiles were studied by inserting a mica piece into coleoptile and using HPLC analysis. The results showed that mica piece could not stop phototropic movement of maize coleoptiles, though it could prevent the translocation of auxin. The coleoptile could bend to grow similarly to phototropism when its one side was injured by a razor blade. Bending growth of the coleoptiles was also found when a piece of agar containing injurant which was extracted from injured coleoptile, was placed on unilateral side of coleoptile with tip excised. HPLC analysis indicated that the inhibiting substance produced during the induction by blue light or by mechanical injury was 6-methoxy-2-benzoxazolinone (MB).

**Key words** Phototropism; Maize; Coleoptile; Inhibitor; 6-methoxy-2-benzoxazolinone

进入 20 世纪以来, 对向光性运动的机理有两种不同的学说, 一种是 Cholodny 和 Went<sup>[1,2]</sup> 以燕麦胚芽鞘实验结果为依据提出的, 即植物向光性运动是由于生长素分布不均匀引起的结果。该学说长期以来为植物生理学界所接受。直到 1975 年 Bruinsma<sup>[3-5]</sup> 以向日葵幼苗为材料, 发现单侧光处理并没有引起生长素分布不均匀, 因而对 Cholodny-Went 的学说提出质疑。1980-1986 年 Hasegawa<sup>[6-8]</sup> 以萝卜等为材料, 对向光性运动的机理进行了详细的研究, 获得与 Bruinsma 相同的结果, 并同时发现单侧光引起向光侧抑制物质积累, 从而与 Bruinsma 一起提出了 Bruinsma-Hasegawa 学说, 即植物向光性运动是由于单侧光引起抑制物

本研究是在 Hasegawa K. 教授(日本筑波大学应用生物化学系)指导下完成的, 特此致谢。

1997-11-16 收稿; 1998-06-17 修回

质分布不均匀而产生。此后,围绕着这两个学说的正确与否展开争论。1991年Iino<sup>[9]</sup>等以玉米胚芽鞘为材料,对向光侧和背光侧生长素含量进行了分析,再次证实了单侧光引起IAA分布不均匀是胚芽鞘向光性运动的直接原因,从而支持了Cholodny-Went学说。为了进一步了解植物向光性运动的机理,本文再次以玉米胚芽鞘为材料,对单侧光或伤害处理后胚芽鞘的弯曲生长的特点以及所产生的抑制物质进行了初步分析。

## 1 材料和方法

**材料** 玉米(*Zea mays* L. cv. Canadian Rocky Bentam 85, Kaneko Seed Co., Japan)种子置于烧杯内,遮光下流水浸泡6 h后置于浸湿的蛭石上,黑暗条件下培养5 d,为使胚芽鞘生长垂直,在胚芽鞘长至0.5 cm时用红光( $0.03 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ,最大波长655 nm)照光24 h,待胚芽鞘长至3–4 cm后取样待测。

**蓝光处理** 将待测材料置于单侧蓝光下处理,光照强度为 $0.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ,最大波长445 nm,光谱带的半高宽为55 nm。

**云母片分隔试验** 取大小约 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 的云母片,从胚芽鞘顶端插入,做垂直于光或平行于光的分隔,插入0.3–0.6 cm。同时在距胚芽鞘顶端0.5 cm处单侧插入云母片(深度为胚芽鞘直径的1/2),做单侧分隔实验。

**伤害试验** 用刀片重复上述方法的试验,但不用云母片分隔。伤害后分别置于单侧光照或黑暗条件下培养。

**抑制物质分离** 取单侧光处理后的玉米胚芽鞘为材料,用刀片将向光侧和背光侧分离,立即置于冷丙酮中,于 $-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰柜中放置24 h,研磨过滤后,用减压浓缩仪除去滤液中的丙酮,水相部分再用等量醋酸乙酯淬取3次,蒸发至干后用少量丙酮复溶,再用氮气吹干, $-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存待测。

**伤害物质的收集和提取** 切取玉米胚芽鞘顶端约1 cm长的切段,置于凝固的琼脂块中,在黑暗条件下培养,定期取样测定琼脂中的伤害物质,将吸附有伤害物质的琼脂置于冷丙酮中浸泡过夜,然后除去丙酮,用醋酸乙酯淬取。

**高效液相色谱仪分析** 将上述样品用50%乙腈溶解后,用HPLC进行分析,流动相为50%乙腈,流速为 $1 \text{ ml min}^{-1}$ ,采用 $6.0 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ 柱(GOLFPAC, Waters),保持时间为6.8 min,荧光检测的波长为Ex: 280 nm, Em: 355 nm,通过曲线查出抑制物质的含量。

## 2 结果和讨论

### 2.1 玉米胚芽鞘的向光性运动

暗下培养的胚芽鞘(约3 cm长)对蓝光十分敏感,当给予单侧蓝光照射后,经过约1 h的延滞期,即开始出现向光弯曲,光照后2–5 h是快速运动期,6 h后达到最大值,以后运动缓慢并趋向停止(图1)。

### 2.2 云母阻断生长素移动对向光性的影响

为了防止生长素等物质在单侧光处理下产生的移动,用云母片将胚芽鞘的顶端分隔为两

半, 深度约为 5 mm, 云母片表面与入射光平行或垂直。结果见图 2。从图中可见, 无论采用垂直还是平行于光照方向的分隔方法, 都没有影响玉米胚芽鞘的向光性运动。按照 Cholodny-Went 的实验<sup>[1,2]</sup>, 当使用云母片将胚芽鞘分隔为两半时, 可阻止生长素的移动, 因而不能产生向光性运动, 而本实验结果则证实了使用云母片分隔后并没有明显妨碍胚芽鞘的向光性运动, 至少可以说在玉米胚芽鞘实验中没有出现与 Cholodny-Went 实验相同的结果。为了进一步比较云母片插入深度的效应, 本实验将云母片的插入深度从 0.3 cm 增加到 1 cm, 结果表明, 当插入的深度达到 0.7 cm 以后, 弯曲度逐渐减少, 但胚芽鞘仍然没有停止向光性弯曲(图 3), 即利用云母片阻隔生长素移动后, 单侧蓝光仍然引起玉米胚芽鞘向光性运动。

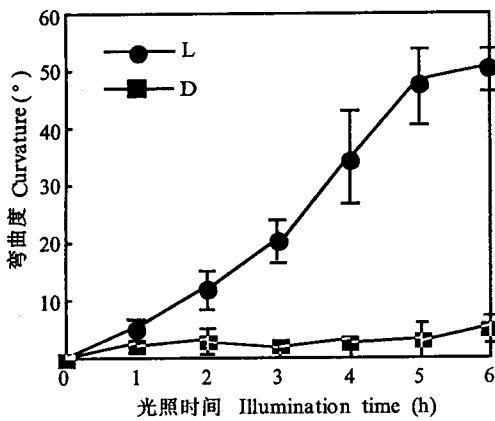


图 1 玉米胚芽鞘的向光性运动

Fig. 1 Phototropism in maize coleoptiles

L: 单侧蓝光光照 Illuminated unilaterally with blue light; D: 暗条件下 In darkness

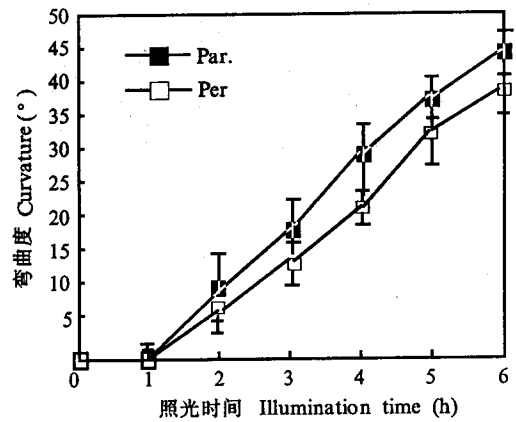


图 2 云母片分隔和单侧蓝光对玉米胚芽鞘弯曲生长的影响

Fig. 2 Effect of mica piece separation and unilateral illumination with blue light on bending growth of maize coleoptiles

Blue light illumination was parallel (Par.) or perpendicular (Per) to the mica piece

Par.: 云母片与光平行; Per: 云母片与光垂直

为了分析云母片阻隔的作用, 本试验将云母片分别插入胚芽鞘的向光侧或背光侧, 以阻隔活性物质从顶端向下移动, 结果表明, 当向光侧插入云母片时, 加快了胚芽鞘的向光性运动, 而当背光侧插入云母片时, 则抑制了玉米胚芽鞘的向光性运动, 说明阻隔活性物质移动对胚芽鞘运动产生了影响(图 4)。然而插入云母片也造成了对胚芽鞘直接的机械伤害, 因此胚芽鞘的弯曲运动是阻隔活性物质的结果还是机械伤害后产生的伤害诱导物质影响的结果需要作进一步的分析。

### 2.3 伤害对胚芽鞘生长的影响

用刀片对玉米胚芽鞘割伤后置于暗条件下培养, 结果表明, 从胚芽鞘顶端垂直切割(5 mm)后不产生弯曲生长, 但其伸长速度减缓, 而当其置于单侧光照时同样产生向光性运动(图 5)。如果单侧伤害胚芽鞘, 则受伤侧的生长速度慢于完整侧, 因而产生弯曲生长, 如给予单侧光处理, 当受伤面与光同侧时, 胚芽鞘的向光性运动增加, 反之, 当受伤面处于背光侧时, 向光性运动受阻, 其现象与云母片阻隔试验的结果一致(图 4), 这说明机械伤害产生的诱

导物质明显影响了胚芽鞘的弯曲运动。为此，我们还进一步对胚芽鞘两侧的 IAA 和抑制物质的含量变化进行测定，发现单侧蓝光光照并没有引起胚芽鞘两侧 IAA 含量不均等分布(另文报道)。

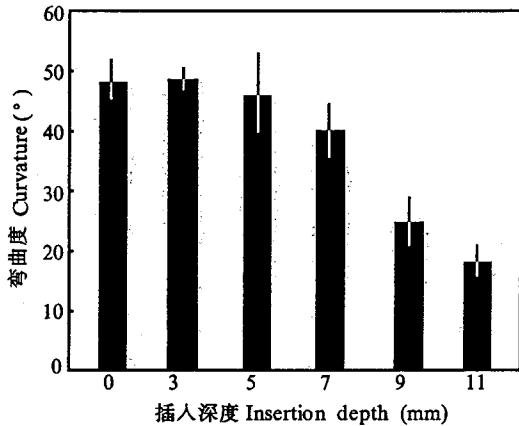


图3 云母片插入深度对胚芽鞘向光性弯曲的影响  
Fig. 3 Effects of insertion depth of mica piece on phototropism curvature in maize coleoptiles

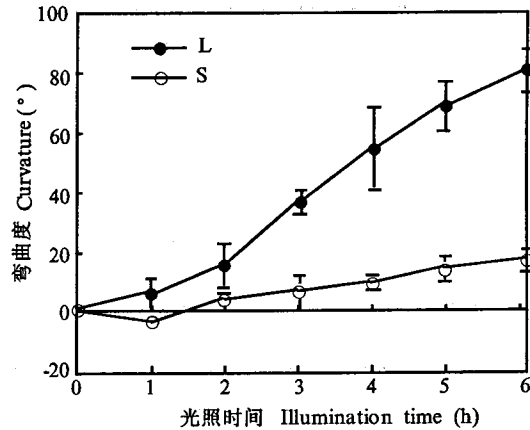


图4 云母片插入胚芽鞘的向光侧或背光侧(离顶端1 cm处)并置于单侧蓝光照射下,玉米胚芽鞘曲度变化的时间进程  
Fig. 4 Time causes of the change of phototropism curvature in maize coleoptiles by inserting mica piece into the coleoptile at 1 cm from the tip at lighted side (L) or shaded side (S)  
L: 向光侧插入云母片; S: 背光侧插入云母片

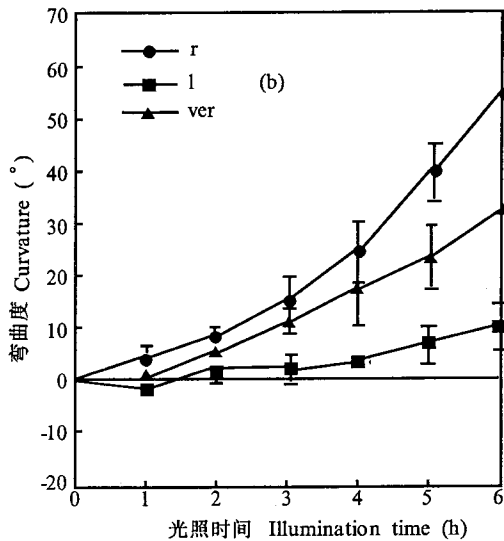
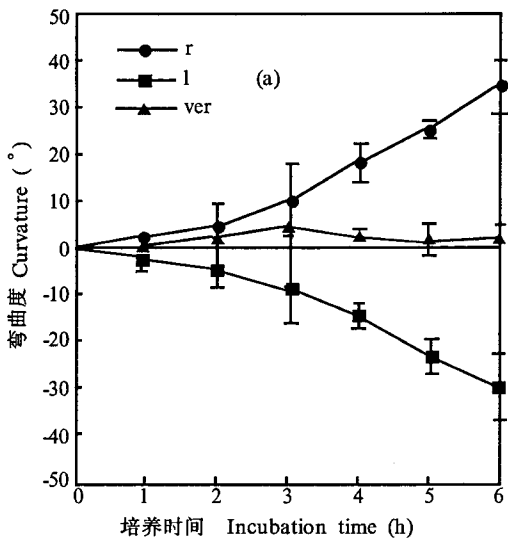


图5 玉米胚芽鞘顶端或两侧被刀片割伤后置于黑暗条件下培养(a)或给予单侧光照照射(b)后胚芽鞘曲度变化的时间进程  
Fig. 5 Time causes of change of curvature in maize coleoptiles injured by razor blade from the tip vertically (ver) or from the right side (r) or left side (l)  
a: incubated in darkness; b: illuminated by blue light  
r: 右侧受伤; l: 左侧受伤; ver: 顶端垂直受伤

### 2.4 向光性运动与生长素和抑制物质的关系

为了进一步分析影响玉米胚芽鞘向光性运动的主要原因, 我们收集了胚芽鞘受单侧蓝光光照后和机械受伤后的分泌物质进行分析。

生物活性分析。将收集的伤害分泌物浓缩分离后, 取中性部分为样品, 观察其对鸡冠花幼苗下胚轴伸长的作用。结果表明, 该物质对鸡冠花下胚轴的伸长有明显的抑制作用(图6), 这种抑制作用在很稀浓度下就能产生, 并在一定范围内随浓度的增加而加强。

抑制物质对玉米胚芽鞘弯曲的影响。将收集有伤害物质的琼脂块(2 mm×2 mm×2 mm)置于去顶玉米胚芽鞘的一侧并于暗条件下培养, 定时测定其弯曲度。结果表明, 含伤害物质的琼脂块导致胚芽鞘弯曲生长(图7)。

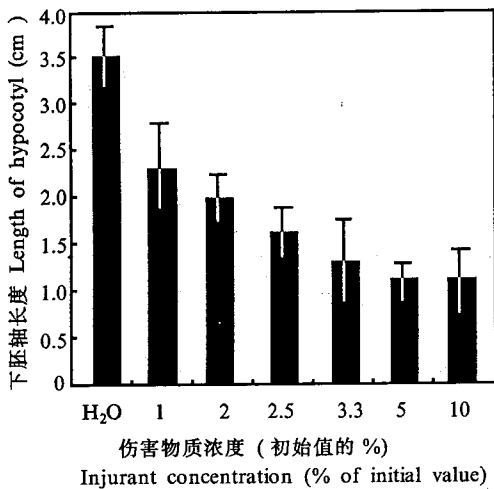


图6 伤害物质对鸡冠花幼苗下胚轴生长的影响。用琼脂块收集玉米胚芽鞘(0.2 g)的伤害物质并将其稀释10-100倍后, 用于鸡冠花幼苗的培养

Fig. 6 Effects of injurant extracted from 0.2 g of maize coleoptiles on hypocotyl growth of cockscomb. The injurant was collected by agar piece and used for bioassay after 10-100-fold dilution.

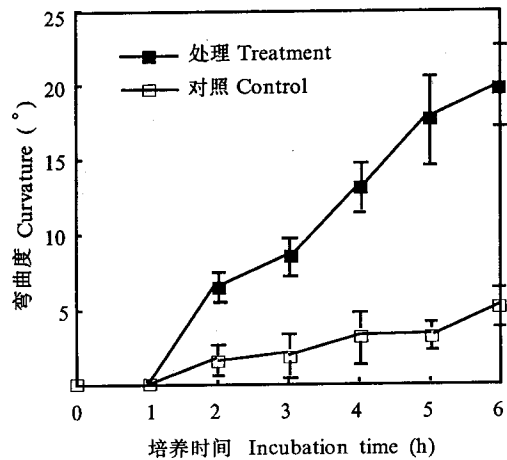


图7 将含伤害物质的琼脂块置于去顶胚芽鞘的一侧, 暗培养条件下胚芽鞘的弯曲生长

Fig. 7 Bending growth of excised tip coleoptile in darkness treated unilaterally with injurant

光诱导产生的抑制物和伤害产物的分析。取单侧光照5 h后的胚芽鞘和收集有伤害物质的琼脂块为材料, 经分离淬取后, 将中性部分的物质用高效液相色谱仪分析。结果表明, 光诱导产生的物质或伤害物质均含有同样的抑制物, 即6-methoxy-2-benzoxazolinone (MB) (图8), 可见该物质是影响胚芽鞘弯曲运动的重要活性物质。

### 3 结论

植物向光性运动是生长素分布不均匀引起的还是抑

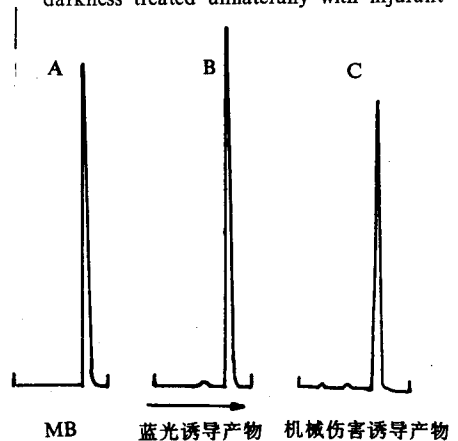


图8 蓝光和机械伤害诱导物质的高效液相色谱仪分析  
Fig. 8 HPLC analysis of standard MB (A) and extracted substance induced by blue light (B) and by mechanical injury (C)

制物质分布不均匀引起,是近年来争议较多的问题。本研究重复了Went和Hasegawa的一些研究方法,对玉米胚芽鞘向光性运动的特性进行探讨,结果表明:①阻隔生长素的移动不能阻止胚芽鞘的向光性弯曲。本研究用云母片对胚芽鞘的顶端进行了分隔,这种分隔对于阻止生长素等活性物质的移动是有效的<sup>[1]</sup>,但却未能阻止胚芽鞘的弯曲生长,可见生长素并不是胚芽鞘弯曲生长的直接原因;②机械伤害能产生与向光性运动相似的作用,使胚芽鞘弯曲生长,其原因是伤害诱导产生的物质抑制了受伤部位细胞的生长,引起胚芽鞘两侧不均匀生长;③HPLC分析结果表明,光照或伤害后产生的物质主要是MB,而该物质在光照下产生<sup>[2]</sup>,是影响植物向光性运动主要的抑制物质。④经过对玉米胚芽鞘两侧IAA的分析,单侧蓝光光照并没有引起IAA分布不均匀(另文报道)。根据上述分析,本文认为,引起玉米胚芽鞘的向光性弯曲的直接原因是向光面产生了抑制物质,使胚芽鞘向光面的生长慢于背光面,从而向光弯曲。

### 参考文献

- 1 Cholodny N. Wuchshormone und tropismen bei den pflanzten. Biol Zentralbl, 1927, 47:604-626
- 2 Went F W. Wuchsstoff und wachstum. Rec Trav Bot Neerl, 1928, 25:1-116
- 3 Bruinsma J, Karssen 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
- 4 Bruinsma J, Hasegawa K. Phototropism involves a lateral gradient of growth inhibitors, not auxin: a review. Environ Exp Bot, 1989, 29:25-36
- 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, Miyamoto K. Raphanusol A: a new growth inhibitor of light-grown radish seedlings. Plant Cell Physiol, 1980, 21:363-366
- 7 Hasegawa K, Hase T. Raphanusol B: a growth inhibitor of light-grown radish seedlings. Plant Cell Physiol, 1981, 22:303-306
- 8 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 raphausamide, involved in phototropism of radish hypocotyls. Plant Physiol, 1986, 81:976-979
- 9 Iino M. Mediation of tropisms by lateral translocation of endogenous indole-3-acetic acid in maize coleoptiles. Plant Cell Environment, 1991, 14:279-286
- 10 Hasegawa K, Noguchi H N, Tanoue C et al. Phototropism in hypocotyls of radish. VI. Flank growth and lateral distribution of cis- and trans- raphanusanins in the first positive phototropic curvature. Plant Physiol, 1987, 85: 379-382
- 11 Hasegawa K, Sakoda M, Bruinsma J. Revision of the theory of phototropism in plants: a new interpretation of a classical experiment. Planta, 1989, 178:540-544
- 12 Hasegawa K, Togo S, Urashima M et al. An auxin-inhibiting substance from light-grown maize shoots. Phytochemistry, 1992, 31:3673-3676