

## 油菜素甾醇类化合物调控园艺作物生长的研究进展

康云艳<sup>1</sup>, 郭世荣<sup>2</sup>, 杨暹<sup>1,\*</sup>, 于文杰<sup>1</sup>

<sup>1</sup>华南农业大学园艺学院, 广州510642; <sup>2</sup>南京农业大学园艺学院, 南京210095

**摘要:** 油菜素甾醇类化合物是一类对植物的生长发育具有重要影响的新型植物激素。本文综述了油菜素甾醇类化合物在园艺作物地上部、根系、花和果实的生长中, 以及器官离体培养和快速繁殖中的主要生理功能及分子机制。

**关键词:** 油菜素甾醇类化合物; 园艺作物; 生长

## Advances in Regulation of Brassinosteroids on Horticultural Crops Growth

KANG Yun-Yan<sup>1</sup>, GUO Shi-Rong<sup>2</sup>, YANG Xian<sup>1,\*</sup>, YU Wen-Jie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; <sup>2</sup>College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

**Abstract:** Brassinosteroids (BRs) are a new group of plant hormones with significant growth-promoting activity. This review focused on main physiology and molecular mechanisms underlying BR-promoted growth in shoots, roots, flowers and fruits of horticultural crops, and the role of BRs in micropropagation.

**Key words:** brassinosteroids; horticultural crops; growth

油菜素甾醇类化合物(brassinosteroids, BRs)是20世纪70年代首次从油菜花粉中分离鉴定出的一类具有促进植物生长作用的物质。研究发现, BR生物合成缺失突变体和不敏感突变体植株均表现为光下矮化, 外源施用BRs对细胞伸长、分裂和分化具有重要的调节作用。可能的生理机制为: BRs参与调控细胞壁修饰、碳水化合物同化和分配以及水孔蛋白活性。此外, 已证明BRs与其它激素间的相互作用在BRs调节植株生长中具有重要作用。近年来, 在拟南芥、水稻、小麦等作物中, 有关BRs作为植物生长物质的分子机制研究取得了显著的进展。研究发现, BR响应的正调节因子[如BZR1 (brassinazole resistant 1)和BES1 (BRI1-entylmethane sulphonate suppressor 1)]以及假定的下游组分[如EXO (exordium)]参与调控BR响应基因表达及生长促进作用(Müssig 2005)。本文综述了BRs在园艺作物不同器官生长中的调节作用和可能的机制。

### 1 营养生长

#### 1.1 地上部

BRs独立或与其它激素相互作用促进细胞伸长。例如, 油菜素内酯(brassinolide, BL)在促进茎伸长方面, 与赤霉素(gibberellins, GAs)存在加性作用, 与生长素存在协同作用。离体黄瓜下胚轴顺

序进行表高油菜素内酯(homobrassinolide, HBR)和吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)处理, 两种激素在促进下胚轴伸长方面表现出协同作用, 但是, 如果两种激素的处理顺序颠倒, 则仅仅表现出IAA的促进作用(Katsumi 1985)。Park (1998)研究发现, IAA只有和表油菜素内酯(epibrassinolide, EBR)共同作用才对*dgt* (番茄生长素不敏感突变体)下胚轴的伸长具有促进作用, 表明EBR可以恢复*dgt*下胚轴对生长素的响应。对甜椒地上部进行EBR、玉米素和GA组合处理也证明了BRs和其它植物激素之间的互作效应(Franck-Duchenn等1998)。相反, 利用豌豆BR突变体研究表明, 缺失突变体*lk*、*lkb*和响应突变体*lka*地上部中GA<sub>20</sub>水平显著高于野生型, 外源BL处理降低了*lkb*中GA<sub>20</sub>水平, 这说明, BL处理抑制了GA<sub>19</sub>向GA<sub>20</sub>的转变; 然而, 尽管BRs负调节豌豆地上部中GA<sub>20</sub>水平, 但是对GA<sub>1</sub> (活性GAs)水平无影响; 进一步研究GA缺失突变体*le-3*、

收稿 2010-10-08 修定 2011-01-23

资助 国家科技支撑计划项目(2007BAD89B14)、国家自然科学基金项目(30871736)、广东省科技攻关项目(2006A2030600)、2010年广东高校优秀青年创新人才培养计划(育苗工程)项目和广东省农业科技技术专项资金项目(粤农函[2009]1124号)。

\* 通讯作者(E-mail: yangxian@scau.edu.cn; Tel: 020-85286903)。

*Is-1*和超表达突变体*sln*发现,内源GA水平的改变对生长点中BRs的合成无显著影响;由此可见,在豌豆中,BRs对茎伸长生长的调节作用不依赖于内源活性GAs水平(Jager等2005)。

碳水化合物是植物光合作用的主要产物,更是植物进行各种生命活动的重要能源物质,充足的碳水化合物供应在植物生长中具有重要作用。研究表明,EBR浸根处理显著促进了黄瓜幼苗上胚轴的伸长生长,可能归因于其促进了糖从叶片向上胚轴的运输(Nakajima和Toyama 1995, 1999)。Goetz等(2000)在番茄中的研究表明, BR处理通过上调下胚轴顶端10 mm片段中*Lin6* (编码胞外转化酶)基因的表达提高了下胚轴中碳水化合物的供应,进而促进了植株下胚轴的伸长。在BR处理的番茄悬浮培养细胞中上调*Lin6* mRNA水平后,也观察到,其与提高的转化酶活性以及悬浮培养细胞蔗糖吸收速率有关。李天来等(2006)也发现,番茄苗期喷施EBR后,幼苗叶片中果糖和葡萄糖含量提高,而蔗糖的含量下降,可溶性酸性转化酶和蔗糖合成酶的活性以及可溶性酸性转化酶和蔗糖合成酶在mRNA水平上的表达增强,但是,中性转化酶和蔗糖磷酸合成酶活性无显著变化。

突变体的分析进一步证明了植物体合成、感受以及响应BRs在植株正常生长发育中的重要作用。与拟南芥BR突变体类似,番茄BR突变体叶片生长受抑制,叶片形态发生改变(Müssig 2005)。与野生型相比,番茄*d<sup>r</sup>* (BR生物合成缺失突变体,极端矮化)植株细胞大小和数目均显著降低(Bishop等1996, 1999)。番茄*dpy* (BR缺失突变体)叶片暗绿、皱缩多毛且向下卷曲;这表明, BRs对番茄叶片表面腺毛形成具有直接作用,与Micro-Tom番茄相比, *dpy*植株叶表面腺毛密度明显增加;外源BL和CS处理可以恢复*dpy*的表型。番茄*curl-3* (BR不敏感突变体)叶片暗绿且卷曲, CaMV 35S转化番茄BRI1后, *curl-3*叶缘锯齿减少,表明BRs在叶缘发育中也具有重要作用(Koka等2000; Holton等2007; Campos等2009)。

## 1.2 根系

BRs对植株生长的促进作用不仅仅表现在地上部,在根系生长中也具有重要的调控作用。Yokota (2001)证实番茄根系可以合成多种BRs;同

时,与野生型相比,豌豆BR合成缺失突变体*lk*根系变粗,侧根数降低。令人费解的是,前人的研究结果中大部分均发现外源BRs抑制植株根系生长,这种现象与BRs在地上部生长中的促进作用以及BRs合成缺失和不敏感突变体根系生长受抑制的现象相矛盾。近年来的研究表明, BRs在根系生长中的作用具有浓度效应。通常,  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 级BRs可促进植株主根生长,  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 级则表现出抑制作用(Haubrick和Assmann 2006)。

Guan和Roddick (1988)报道, EBR对番茄离体和活体根系生长均表现出抑制作用。进一步的研究表明, BRs只有在浓度高于 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时才表现出抑制作用。 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR处理番茄离体根系基部和顶端均抑制了根系顶端区的伸长,但是对基部生长无抑制作用。 $1$ 和 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR处理对根系顶端也表现出抑制作用,但仅当EBR直接处理根系顶端时抑制作用才显著。Roddick等(1993)认为离体根系对低浓度EBR的敏感性降低可能归因于离体根段太大,而不是生理年龄。同样,  $2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  BL浸种处理抑制了芹菜根系生长;根系乙烯水平处理期间无显著变化, DNA合成在处理48 h后显著降低(Jonesheld等1996)。然而, Howell等(2007)发现,  $0.005 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR处理显著增加了洋葱根系长度,促进了根尖有丝分裂。

在豌豆BR合成缺失突变体*lk*、*lkb*以及BR响应突变体*lka*的研究发现,与野生型相比,突变体植株侧根数降低,侧根变短,根瘤数降低;接穗为*lkb*的植株根瘤数显著低于接穗为LKB的植株;LKB、*lkb*相互和自根嫁接,根系中IAA和GA水平均无显著变化;这表明, BRs在植株侧根发育中具有重要作用,其可能通过影响地上部进而调节根系结瘤,与根系中IAA和GA水平无关(Ferguson等2005)。

## 2 生殖生长

在植物组织中,内源BRs在花粉和不成熟种子中的含量最丰富。在拟南芥中的研究已证明了BRs在生殖生长中的重要作用。Müssig (2005)发现, BRs通过调节植物体内代谢途径和养分分配,或其它信号途径互作,进而调控植株分枝特性和花器官形成。BRs可能通过刺激花丝和花粉生长,修饰花粉特性影响受精过程。但目前, BRs在生殖生长中的调节机制仍然不清楚。

## 2.1 花

温室和田间试验均表明, 仙人掌叶状茎喷施BRs类似物BB-6和BB-16均可促进其叶芽的分化, 提高叶状茎的生长速率(Aristeo Cortes等2003)。

而短日作物矮牵牛子叶喷施0.01和1.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  BL和油菜素甾酮(castasterone, CS)显著抑制了植株开花, 抑制程度依赖于BRs施用浓度和方法以及暗期的长短。1和10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  BL处理牵牛花离体茎尖完全抑制了植株花器官的形成(Kesy等2003)。Papadopoulou和Grumet (2005)报道, 黄瓜、甜瓜和美洲南瓜经EBR处理后, 不仅植株雌花发生提早且主茎雌花数增多, 3种作物中黄瓜对EBR的反应最为敏感, 同时, 伴随着黄瓜和美洲南瓜幼苗体内乙烯的生成; 进一步研究表明, 5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  乙烯利(乙烯生成量相当于10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR诱导的生成量)对雌花的诱导作用仅出现在黄瓜中。因此, BRs对黄瓜雌花的诱导作用可能, 至少部分归因于其诱导了乙烯的生成。

## 2.2 果实

BRs在番茄果实成熟中也具有重要作用。EBR和HBR处理离体番茄果皮圆片均显著提高了果皮中番茄红素和碳水化合物含量以及乙烯生成水平, 降低了叶绿素和脱落酸的含量, 有利于果实成熟(Vardhini和Rao 2002)。Ali等(2006)用HBR处理番茄根系也得到了类似的结果。Montoya等(2005)研究表明, 番茄果实成熟过程中, BRs生物活性水平提高。Lisso等(2006)对番茄突变体 $d^r$ 研究发现, 植株果实可以合成BRs, 但地上部中未检测到BRs; 进一步观察 $d^r$ 果实代谢变化发现, 淀粉和糖水平降低, 氨基酸含量提高; 叶片EBR喷施处理可部分恢复 $d^r$ 果实的正常代谢, 这表明, 地上部合成的BRs参与调节果实的正常代谢。在单性结实能力不同的两个黄瓜品种中的研究表明, BRs在黄瓜果实的早期发育中具有重要作用; 外源BRs可提高黄瓜单性结实能力, BRs生物合成抑制剂(brassinazole, Brz)抑制植株单性结实。BRs不仅促进细胞分裂, 且提高了细胞周期相关基因的转录水平, 尤其是cyclin D3基因(Fu等2008)。Symons等(2006)研究表明, 葡萄果实发育过程中, 编码BR生物合成酶和受体蛋白的基因转录水平上的累积特征与果实始成熟期内源BRS水平显著提高相一致,

表明内源BRS水平参与调节葡萄果实的成熟。同时, 外源EBR处理显著促进了葡萄果实的成熟, brassinazole, Brz处理推迟了果实成熟。

除了调控果实成熟外, BRs在果实产量和品质形成中也具有重要作用。在荔枝开花前叶面喷施BL显著提高了叶片中果胶甲酯酶和多聚半乳糖醛酸酶的活性, 以及果皮中水溶性果胶、原果胶和钙离子的含量, 降低了裂果率, 提高了荔枝果实的经济价值(Peng等2004)。在黄果西番莲生殖生长的几个阶段, 喷施BR类似物BB-16均提高了植株果实数量, 其中, 第一花开放后的连续三周内BR处理效果最显著(Gomes等2006)。李振等(2010)报道, 将BR信号转导因子BZR1转入到番茄中能显著增加转色期果实中可溶性固形物、可滴定有机酸、可溶性蛋白、维生素C、番茄红素和类胡萝卜素的含量, 从而改善了番茄的营养品质。

## 3 离体培养和快速繁殖

近年来, 有关BRs诱导愈伤组织产生方面的研究相继报道。Sasaki (2002)研究发现, 外源BR显著促进了光下花椰菜离体下胚轴片段不定芽的形成。然而, 暗培养条件下, 其再生能力降低可能归因于黑暗条件下乙烯生成的提高, 因为乙烯合成抑制剂氨氧乙烯基甘氨酸(AVG)和乙烯作用抑制剂氨氧乙酸(AOA)均改善了暗培养下胚轴片段的再生能力。Azpeitia等(2003)也发现, 外源不同浓度BR处理可促进椰子胚芽外植体的初始愈伤组织、胚性愈伤组织和体细胞胚的形成。

Schaefer等(2002)发现, 100~10 000  $\text{ng}\cdot\text{株}^{-1}$  28-高乙基油菜素甾酮的氟衍生物(fluoro derivative of 28-homoethylcastasterone, 5F-HCTS)处理苹果砧木Marubakaido新梢顶端能提高砧木的增殖系数, 可能由于5F-HCTS提高了一级和二级侧枝数。进一步研究发现, 5F-HCTS处理可促进离体*Malus prunifolia*枝条的生长, 同时伴随着乙烯的大量释放。然而, 无论是在培养基中添加乙烯合成前体ACC还是将枝条置于富含乙烯的气体中均抑制了枝条的生长, 这表明, 5F-HCTS对枝条生长的促进作用与乙烯无直接联系(Pereira-Neto等2006)。Pereira-Neto等(2009)进一步用5和10  $\mu\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$  外源BRs合成抑制剂Brz220处理Marubakaido新梢, 发现地上部内源6-脱氧长春花甾酮、6-脱氧香蒲甾

醇、油菜素甾酮含量显著降低,且降低幅度随着Brz220处理浓度的增加而增大;同时,系统分析了5F-HCTS处理1和4周的,枝条地上部氨基酸类、有机酸类、脂肪酸类、糖类、糖醇类等代谢物含量的变化,发现除了果糖、葡萄糖和古洛糖酸含量高于未处理植株枝条外,其余代谢物含量的变化未表现出明显规律。因此推测,5F-HCTS对枝条生长和新梢发生的促进作用可能受内源BR含量影响,且受多种代谢途径的综合调控。

#### 4 展望

综上所述, BRs在园艺作物生长和产量形成中起着关键作用。园艺作物种类繁多、产品器官丰富多样、产量高、产值大、见效快。因此,随着BRs生物合成和代谢途径及信号转导研究的深入、生产工艺以及田间使用技术的不断完善,通过外源施用BRs以及遗传改良、育种等方法提高园艺作物产量和品质具有广阔的应用前景。

#### 参考文献

- 李天来, 赵聚勇, 崔娜, 李国强(2008). 苗期喷施表油菜素内酯对番茄叶中蔗糖代谢的影响. 植物生理学通讯, 44 (3): 417~420
- 李振, 魏佳, 贾承国, 汪俏梅(2010). bzr1基因的转化对番茄果实性状的影响. 中国农业科学, 43 (9): 1868~1876
- Ali B, Hayat S, Aiman Hasan S, Ahmad A (2006). Effect of root applied 28-homobrassinolide on the performance of *Lycopersicon esculentum*. Sci Hort, 110: 267~273
- Aristeo Cortes P, Terrazas T, Colinas León T, Larqué-Saavedra A (2003). Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.]. Sci Hort, 97: 65~73
- Azpeitia A, Chan JL, Saenz L, Oropeza C (2003). Effect of 22(S), 23(S)-homobrassinolide on somatic embryogenesis in plumule explants of *Cocos nucifera* (L.) cultured *in vitro*. J Hort Sci Biotech, 78: 591~596
- Bishop GJ (2003). Brassinosteroid mutants of crops. J Plant Growth Regul, 22: 325~335
- Bishop GJ, Nomura T, Yokota T, Harrison K, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Jones JDG, Kamiya Y (1999). The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis. Proc Natl Acad Sci USA, 96: 1761~1766
- Campos ML, de Almeida M, Rossi ML, Martinelli AP, Junior CGL, Figueira A, Rampelotti-Ferreira FT, Vendramim JD, Benedito VA, Peres LEP (2009). Brassinosteroids interact negatively with jasmonates in the formation of anti-herbivory traits in tomato. J Exp Bot, 60: 4347~4361
- Ferguson BJ, Ross JJ, Reid JB (2005). Nodulation phenotypes of gibberellin and brassinosteroid mutants of pea. Plant Physiol, 138: 2396~2405
- Franck-Duchenne M, Wang Y, Tahar SB, Beachy RN (1998). *In vitro* stem elongation of sweet pepper in media containing 24-epibrassinolide. Plant Cell Tiss Org Cult, 53: 79~84
- Fu FQ, Mao WH, Shi K, Zhou YH, Asami T, Yu JQ (2008). A role of brassinosteroids in early fruit development in cucumber. J Exp Bot, 59: 2299~2308
- Goetz M, Godt DE, Roitsch T (2000). Tissue-specific induction of the mRNA for an extracellular invertase isoenzyme of tomato by brassinosteroids suggests a role for steroid hormones in assimilate partitioning. Plant J, 22: 515~522
- Gomes MMA, Campostrini E, Leal NR, Viana AP, Ferraz TM, Siqueira LN, Rosa RCC, Netto AT, Nuñez-Vázquez M, Zullo MAT (2006). Brassinosteroid analogue effects on the yield of yellow passion fruit plants (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). Sci Hort, 110: 235~240
- Guan M, Roddick JG (1988). Epibrassinolide inhibition of development of excised, adventitious and intact roots of tomato (*Lycopersicon esculentum*): comparison with the effects of steroidal estrogens. Physiol Plantarum, 74: 720~726
- Haubrick LL, Assmann SM (2006). Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles. Plant Cell Env, 29: 446~457
- Holton N, Caño-DelGado A, Harrison K, Montoya T, Chory J, Bishop G (2007). Tomato *BRASSINOSTEROID INSENSITIVE1* is required for systemin-induced root elongation in *Solanum pimpinellifolium* but is not essential for wound signaling. Plant Cell, 19: 1709~1717
- Howell WM, Keller III GE, Kirkpatrick JD, Jenkins RL, Hunsinger RN, McLaughlin EW (2007). Effects of the plant steroidal hormone, 24-epibrassinolide, on the mitotic index and growth of onion (*Allium cepa*) root tips. Genet Mol Res, 6: 50~58
- Jager CE, Symons GM, Ross JJ, Smith JJ, Reid JB (2005). The brassinosteroid growth response in pea is not mediated by changes in gibberellin content. Planta, 221: 141~148
- Jones-Held S, Vandoren M, Lockwood T (1996). Brassinolide application to *Lepidium sativum* seeds and the effects on seedling growth. J Plant Growth Regul, 15: 63~67
- Katsumi M (1985). Interaction of a brassinosteroid with IAA and GA<sub>3</sub> in the elongation of cucumber hypocotyl sections. Plant Cell Physiol, 26: 615~626
- Kesy J, Trzaskalsky A, Galoch E, Kopcewicz J (2003). Inhibitory effect of brassinosteroids on the flowering of the short-day plant *Pharbitis nil*. Biol Plantarum, 47: 597~600
- Koka CV, Eric Cerny R, Gardner RG, Noguchi T, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Clouse SD (2000). A Putative role for the tomato genes *DUMPY* and *CURL-3* in brassinosteroid biosynthesis and response. Plant Physiol, 122: 85~98
- Lisso J, Altmann T, Müssig C (2006). Metabolic changes in fruits of the tomato *d*<sup>1</sup> mutant. Phytochemistry, 67: 2232~2238
- Montoya T, Nomura T, Yokota T, Farrar K, Harrison K, Jones JD, Kaneta T, Kamiya Y, Szekeres M, Bishop GJ (2005). Patterns of *Dwarf* expression and brassinosteroid accumulation in tomato reveal the importance of brassinosteroid synthesis during fruit development. Plant J, 42: 262~269
- Müssig C (2005). Brassinosteroid-promoted growth. Plant Biol, 7: 110~117
- Nakajima N, Toyama S (1999). Effects of epibrassinolide on sugar

- transport and allocation to the epicotyl in cucumber seedlings. *Plant Prod Sci*, 2: 165~171
- Nakajima N, Toyama S (1995). Study on brassinosteroid-enhanced sugar accumulation in cucumber epicotyls. *Jpn J Crop Sci*, 64: 616~621
- Papadopoulou E, Grumet R (2005). Brassinosteroid-induced femaleness in cucumber and relationship to ethylene production. *Hort Sci*, 40: 1763~1767
- Park WJ (1998). Effect of epibrassinolide on hypocotyl growth of the tomato mutant *diageotropica*. *Planta*, 207: 120~124
- Peng J, Tang X, Feng H (2004). Effects of brassinolide on the physiological properties of litchi pericarp (*Litchi chinensis* cv. nuomoci). *Sci Hortic*, 101: 407~416
- Pereira-Netto AB, Cruz-Silva CTA, Schaefer S, Ramirez JA, Galagovsky LR (2006). Brassinosteroid-stimulated branch elongation in the marubakaido apple rootstock. *Trees*, 20: 286~291
- Pereira-Netto AB, Roessner UTE, Fujioka S, Bacic A, Asami T, Yoshida S, Clouse SD (2009). Shooting control by brassinosteroids: metabolomic analysis and effect of brassinazole on *Malus prunifolia*, the Marubakaido apple rootstock. *Tree Physiol*, 29: 607~620
- Roddick JG, Rijnenberg AL, Ikekawa N (1993). Developmental effects of 24-epibrassinolide in excised roots of tomato grown *in vitro*. *Physiol Plantarum*, 87: 453~458
- Sasaki H (2002). Brassinolide promotes adventitious shoot regeneration from cauliflower hypocotyl segments. *Plant Cell Tiss Org*, 71: 111~116
- Schaefer S, Medeiro SA, Ramirez JA, Galagovsky LR, Pereira-Netto AB (2002). Brassinosteroid-driven enhancement of the *in vitro* multiplication rate for the marubakaido apple rootstock [*Malus prunifolia* (Willd.) Borkh]. *Plant Cell Rep*, 20: 1093~1097
- Symons GM, Davies C, Shavrukov Y, Dry IB, Reid JB, Thomas MR (2006). Grapes on steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiol*, 140: 150~158
- Vardhini BV, Rao SSR (2002). Acceleration of ripening of tomato pericarp discs by brassinosteroids. *Phytochemistry*, 61: 843~847
- Yokota T, Sato T, Takeuchi Y, Nomura T, Uno K, Watanabe T, Takatsuto S (2001). Roots and shoots of tomato produce 6-deoxo-28-norcastasterone, 6-deoxo-28-nortyphasterol and 6-deoxo-28-norcastasterone, possible precursors of 28-norcastasterone. *Phytochemistry*, 58: 233~238