

青钱柳种皮甲醇浸提液的生物测定

杨万霞, 方升佐

(南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 通过对青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja)种皮甲醇浸提液的生物测定,探讨青钱柳种子休眠与种皮内源抑制物质的关系。结果表明,青钱柳种皮不同浓度的甲醇浸提液(10%、20%、25%、30%和40%)对白菜(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*)种子发芽率和种子活力以及幼苗的高生长、根生长均有抑制作用,浓度越高抑制作用越明显。用30%和40%浸提液处理,白菜种子不能萌发;用10%、20%和25%浸提液处理,白菜种子的萌发率分别为98.6%、75.0%和9.0%;苗高和根长分别比对照降低了31.6%、48.1%、79.7%和21.3%、70.8%、90.2%。表明青钱柳种子的种皮中含有抑制种子萌发和幼苗生长的成分。

关键词: 青钱柳;抑制物质;甲醇浸提液;生物测定

中图分类号: Q945.35; Q948.12⁺2.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2005)04-0011-04

The bioassay of the methanol extract from *Cyclocarya paliurus* seed coat YANG Wan-xia, FANG Sheng-zuo (College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(4): 11-14

Abstract: The bioassay of the methanol extract from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seed coat was studied in order to investigate the relationship between the restraining substances in seed coat and the dormancy of *C. paliurus* seed. The results showed that the methanol extract from *C. paliurus* seed coat in different concentration of 10%, 20%, 25%, 30%, 40% all exhibited the inhibitory role on the germination rate and vigor index of seed (SVI) and height and root growth of seedling of cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*), with the higher the extract concentration, the more obvious the inhibitory role. The cabbage seed could not germinate with 30% and 40% methanol extracts. The germination rate of cabbage seed treated by 10%, 20% and 25% methanol extracts were 98.6%, 75.0% and 9.0% respectively, the height and root length of cabbage seedling decreased by 31.6%, 48.1%, 79.7% and 21.3%, 70.8%, 90.2% respectively in comparison with the control. It is concluded that the seed coat of *C. paliurus* contains some germination-restraining components.

Key words: *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja; restraining substance; methanol extract; bioassay

青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja)又名青钱李、摇钱树等,系胡桃科(Juglandaceae)青钱柳属(*Cyclocarya* Iljinskaja)植物^[1],是中国特有的单属植物之一,广泛分布于江西、浙江、江苏、安徽、四川、贵州、台湾等地的山区、溪谷或石灰岩山地^[2,3]。青钱柳具有很高的药用、材用和观赏等价值,因此具有极高的保护和开发应用价值。由于青钱柳多为天然林,且多零星分布于深山老林和一些自然保护区中,因而,现有可用资源有限。目前,国内外尚无大量人工繁殖和栽培青钱柳的研究报道,对青钱柳的开发利用和产业化进程有一定的影响。

青钱柳种子具有深休眠特性,在常规播种条件下,播种后一般需隔年甚至2年后才能萌发,对青钱

柳的繁殖和迁地保护有一定的影响。所以,研究青钱柳种子的休眠原因,不仅能为迁地保护过程中播种繁殖和种子种质的长期保存提供科学数据,而且还可增加青钱柳的可利用资源提供实验基础^[3]。

有研究表明,有些植物种子的种皮或其他部位存在某种或某些化学成分,阻碍了植物生理活动的某个代谢环节,影响种子发芽过程的进行,造成种子休眠^[4-6],这些成分一般为内源抑制物质。本文通

收稿日期: 2004-11-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371156)

作者简介: 杨万霞(1979-),女,山东东阿人,硕士,助教,主要从事森林培育学等课程的教学工作以及人工林定向培育等方面的科研工作。

通过对青钱柳种皮甲醇提取液的生物测定,研究了青钱柳种皮内源抑制物质与种子休眠的关系,旨在为寻找方便有效的解除青钱柳种子休眠的方法提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

青钱柳种子于2002年11月采于湖北鹤峰,千粒重160.42 g,有种仁率66.19%。采种后搓碎果翅,扬净供试。白菜(*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*)种子为市售,发芽率 $\geq 85\%$,含水量 $\leq 7\%$,净度 $\geq 98\%$ 。

1.2 实验方法

将风干的青钱柳有胚种子解剖分离,取出种皮,用粉碎机将种皮粉碎后过2 mm筛。称取20 g,置于250 mL的锥形瓶中,加200 mL 80%甲醇溶液,混匀后放入冰箱内,在0~4℃恒温条件下密闭浸提,1 h震荡1次,使其充分浸提,24 h后取出过滤,得到种皮的甲醇浸提液,用蒸馏水将甲醇浸提液分别稀释至原浸提液浓度的10%、20%、25%、30%和40%,备用。对照为蒸馏水和10%、20%、25%、30%、40%甲醇。用上述处理及对照溶液分别浸泡白菜种子,每处理设3个重复,每重复100粒种子。浸种3 h后,将白菜种子置床,于光照培养箱内恒温培养,培养温度30℃,进行白菜种子发芽实验。每天记录发芽数,48 h后统计白菜种子的发芽率(以露出子叶为发芽标准);发芽结束后,计算发芽势;7 d后将苗拔出测白菜幼苗的苗高和根长。

1.3 数据计算及处理

白菜种子的发芽率、发芽势和简化活力指数按下列方法计算:

发芽率:在一定时间内,正常发芽种子数占供试种子总数的百分比。

发芽势:种子日发芽数达到高峰时正常发芽种子的总数与供试种子总数的百分比^[7]。

简化活力指数(simplified vigor index) $SVI = S \times G$ ^[8]。其中S为幼苗高度或干鲜质量(本文采用幼苗高度),G为发芽率。

实验数据应用EXCEL软件和SAS软件进行方差分析和Duncan多重对比。

2 结果和分析

2.1 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子发芽率与发芽势的影响

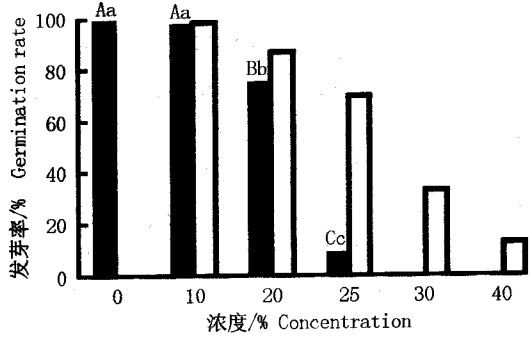
青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子发芽率及发芽势的影响见图1和图2。可以看出,随着青钱柳种皮甲醇浸提液浓度的增加,白菜种子的发芽率和发芽势均呈逐渐降低的趋势。从发芽率来看,对照组(蒸馏水浸种)白菜种子的发芽率为99.6%,用10%、20%和25%甲醇浸提液处理的白菜种子发芽率分别为98.6%、75.0%和9.0%,分别比对照降低了1.0%、24.7%和91.0%,比相对应的甲醇对照降低了0.3%、11.9%和61.7%;而用30%和40%甲醇浸提液处理的白菜种子均不能发芽,相对应的甲醇对照组的发芽率约为33%和13%。方差分析结果表明:对照组的种子发芽率与10%甲醇浸提液处理组间差异不显著,其他处理组间的种子发芽率差异均达到显著水平($\alpha=0.05$)。

从发芽势来看,对照组(蒸馏水浸种)的白菜种子发芽势是90.3%,用10%、20%和25%甲醇浸提液处理的白菜种子的发芽势分别为85.3%、65.7%和6.0%,分别比对照组降低了5.5%、27.2%和93.3%,比相对应的甲醇对照降低了2.9%、12.8%和57.5%;而用30%和40%甲醇浸提液处理的白菜种子发芽势均为0。方差分析结果表明,对照组种子的发芽势与其他处理组间的差异均达到显著水平($\alpha=0.05$)。

在实验中还可观察到,随着浸提液浓度的增加,也出现了较多的畸形苗、异状苗和腐烂苗。用20%甲醇浸提液处理的白菜种子发芽后,出现22%的异状苗,而用25%甲醇浸提液处理的白菜种子发芽后,出现57%的异状苗,有些苗还出现了发黑、腐烂等现象。对照组的白菜种子在置床后13.5 h时萌发率就达到了87%;而用10%和20%甲醇浸提液处理的白菜种子在置床后13.5 h时萌发率只有37.0%和1.0%;用25%甲醇浸提液处理的白菜种子在置床后50 h才开始萌发。

以上实验结果表明,青钱柳种皮的甲醇浸提液中含有某些化学成分,这些成分能抑制白菜种子发芽。当浸提液浓度为10%时,对白菜种子的发芽率、发芽势影响不明显,而随着浸提液浓度的提高,

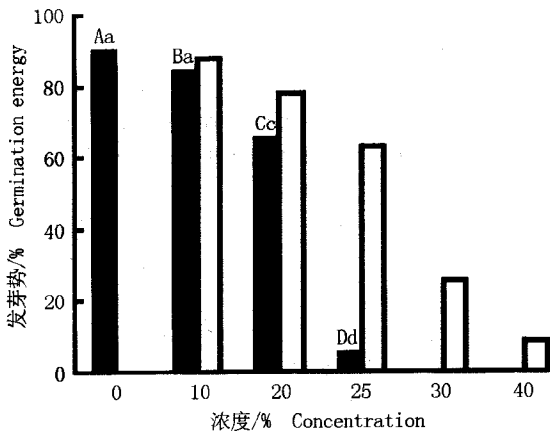
抑制成分含量增加,浸提液对白菜种子的发芽率、发芽势和萌发率的影响也越明显。青钱柳种皮甲醇浸提液能延缓白菜种子初始发芽的时间,从而导致各处理组白菜种子发芽高峰到达的时间也被推迟,说明青钱柳种子种皮中含有某些化学成分,能抑制种子萌芽,造成种子休眠。



■ 甲醇浸提液 Methanol extract; □ 甲醇对照 Methanol control

不同的大写和小写字母分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平上的差异显著性 The different capital and small letters mean the significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels.

图 1 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子发芽率的影响
Fig. 1 Effects of different concentrations of methanol extract from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seed coat on the germination rate of cabbage seed



■ 甲醇浸提液 Methanol extract; □ 甲醇对照 Methanol control

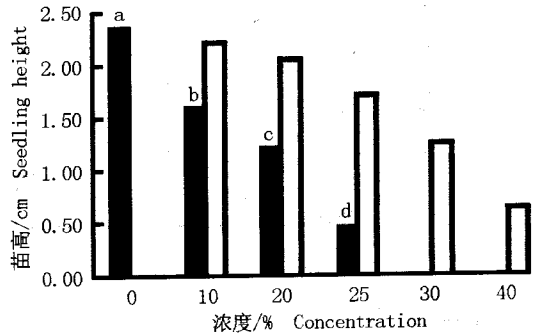
不同的大写和小写字母分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平上的差异显著性 The different capital and small letters mean the significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels.

图 2 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子发芽势的影响
Fig. 2 Effects of different concentrations of methanol extract from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seed coat on the germination energy of cabbage seed

2.2 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜苗高和根长的影响

2.2.1 对白菜幼苗高度的影响 不同浓度的青钱

柳种皮甲醇浸提液对白菜幼苗苗高的影响不同(图 3)。对照(蒸馏水)组的苗高平均为 2.37 cm,而用 10%、20% 和 25% 甲醇浸提液处理后,白菜幼苗平均苗高分别为 1.62、1.23 和 0.48 cm,分别比对照降低了 31.6%、48.1% 和 79.7%,比相对应的甲醇对照降低了 27.3%、40.5% 和 72.2%。方差分析结果表明,各处理组间白菜幼苗的苗高差异均达到极显著水平。



■ 甲醇浸提液 Methanol extract; □ 甲醇对照 Methanol control

不同的小写字母分别表示在 $P < 0.01$ 水平上的差异显著性 The different small letters mean the significant difference at $P < 0.01$ level.

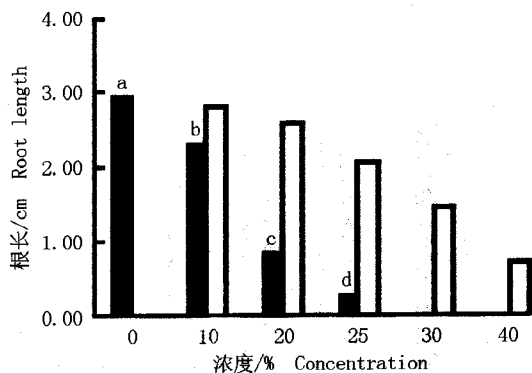
图 3 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜幼苗高度的影响
Fig. 3 Effects of different concentrations of methanol extract from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seed coat on the height of cabbage seedling

观察发现,随着青钱柳种皮甲醇浸提液浓度的提高,白菜幼苗平均苗高逐渐降低,同时,茎则出现了一定程度的不规则加粗,这是畸形苗异状苗的一种表现形式。可以认为,青钱柳种皮所含的抑制成分不仅能抑制种子发芽、延缓种子的萌发,同时,也能影响幼苗的高生长,甚至造成异状苗和畸形苗。

2.2.2 对白菜幼苗根长的影响 不同浓度的青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜幼苗根长的影响不同(图 4)。对照(蒸馏水)组白菜幼苗的平均根长为 2.95 cm,而用 10%、20% 和 25% 甲醇浸提液处理后,白菜幼苗的平均根长分别为 2.32、0.86 和 0.29 cm,分别比对照降低了 21.3%、70.8% 和 90.2%,比相对应的甲醇对照降低了 16.6%、58.6% 和 60.7%。方差分析结果表明,各处理组间幼苗的平均根长差异均达到极显著水平。

在实验过程中发现,随着青钱柳种皮甲醇浸提液浓度的提高,白菜幼苗的平均根长逐渐减小;甲醇浸提液浓度越高,白菜苗就越容易干枯。当甲醇浸提液浓度为 20% 时,白菜种子从长出胚根和子叶到

胚根真正向下生长成为幼苗所需要的时间比对照组和10%甲醇浸提液处理组更长;当青钱柳种皮甲醇浸提液浓度为25%时,白菜苗的高生长仍可进行,但胚根的伸长生长却被抑制。从以上结果可以推断,青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜幼苗根的生长有抑制作用,而且对根生长的影响明显高于苗高生长。



■ 甲醇浸提液 Methanol extract; □ 甲醇对照 Methanol control

不同的小写字母分别表示在 $P < 0.01$ 水平上的差异显著性 The different small letters mean the significant difference at $P < 0.01$ level.

图4 不同浓度青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜幼苗根长的影响
Fig. 4 Effects of different concentrations of methanol extract from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seed coat on the root length of cabbage seedling

2.3 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子活力的影响

简化活力指数(SVI)含有发芽率和幼苗生长势2个变量,可以较全面地反映种子的活力状况^[9]。不同浓度青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子活力的影响见表1。由表1可以看出,随着浸提液浓度的提高,白菜种子活力指数呈现下降的趋势。方差分析结果表明,不同浓度甲醇浸提液处理的白菜种子活力指数差异均达到极显著水平。

表1 青钱柳种皮甲醇浸提液对白菜种子简化活力指数的影响
Table 1 Effects of different concentrations of methanol extract from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seed coat on the simplified vigor index of cabbage seed

浓度/% Concentration	简化活力指数 ¹⁾ Simplified vigor index ¹⁾
0(CK)	2.36Aa
10	1.59Bb
20	0.93Cc
25	0.61Dd
F	715.13 **

¹⁾不同的大写和小写字母分别表示在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 水平上的差异显著性 The different capital and small letters mean the significant differences at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels. **: $P < 0.01$

3 结 论

通过青钱柳种皮甲醇浸提液的生物测定,可以推断青钱柳种皮浸提液中含有某些化学成分,这些成分能抑制白菜种子发芽。当浸提液浓度较低时,对白菜种子的抑制作用不明显,随着浸提液浓度的提高,浸提液中抑制成分含量增加,对白菜种子的发芽率、发芽势、苗高及根长的影响也越明显。这说明青钱柳种皮中所含的这些成分能造成种子休眠,抑制种子萌发,这些内源抑制成分也是导致青钱柳种子休眠的原因之一。对内源抑制成分的研究已有许多报道^[4-6,10,11],但是由于这些内源抑制成分种类较多,而且含量较少,所以,成分鉴定及含量测定都有一定的难度。本研究只对青钱柳种皮甲醇浸提液进行生物测定,要想确定这些内源抑制物质的成分及其含量,还需要进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 第二十一卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1979. 18-19.
- [2] 谢明勇, 李 磊. 青钱柳化学成分和生物活性研究概况[J]. 中草药, 2001, 32(4): 365-366.
- [3] 方升佐, 杨万霞. 青钱柳的开发利用与资源培育[J]. 林业科技开发, 2003, 17(1): 49-51.
- [4] 郑彩霞, 王九岭, 智 信, 等. 国内外红松种子休眠与催芽问题研究动态[J]. 世界林业研究, 1997, 10(5): 3-9.
- [5] 王文章, 陈 杰, 刘恩举. 红松种子休眠与种皮的关系[J]. 北京林业大学学报, 1986, 14(4): 83-86.
- [6] 王文章, 陈 杰, 刘恩举. 用放射免疫法测定红松种子休眠、层积、萌发过程中的 ABA 含量[J]. 北京林业大学学报, 1987, 15(1): 7-11.
- [7] 国际种子检验协会. 国际林木种子检验规程[M]. 农业部全国农作物种子质量监督检测中心, 浙江大学种子科学中心译. 北京: 中国农业出版社, 1999. 111-127.
- [8] 方升佐, 朱 梅. 不同种源青檀种子的营养成分及种子活力的差异[J]. 植物资源与环境, 1998, 7(2): 16-21.
- [9] 陶嘉龄, 郑光华. 种子活力[M]. 北京: 科学出版社, 1991. 110.
- [10] 李容柏, 秦学毅. 普通野生稻和药用野生稻种子休眠的研究[J]. 绵阳农专学报, 1992, 9(8): 31-37.
- [11] 周佑勋, 段小平. 华南五针松种子休眠生理的研究[J]. 中南林学院学报, 1993, 13(2): 122-126.

(责任编辑: 惠 红)