

南方红豆杉种子发芽抑制物质的初步研究

于海莲 李凤兰 赵翠格 郭惠红

(北京林业大学生物科学与技术学院)

摘要:通过系统分离、GC-MS 鉴定的方法,从南方红豆杉种子甲醇浸提液中分离鉴定出多种有机化合物,分析确定了它们的种类和相对含量。结果表明:有机物质主要为有机酸类、酯类、胺类、醇类和酮类等。其中乙酸的抑制活性在其他种子抑制物质的研究中已被证实,胺类物质首次从南方红豆杉种子中被分离鉴定。分别对南方红豆杉种子胚、胚乳和 3 层种皮的甲醇浸提液进行生物测定,比较几个部位中发芽抑制物质活性的差别,结果说明种子各部位中均含有发芽抑制物质,这些物质对白菜种子的发芽率和胚根生长有抑制作用,但各部位抑制物质的抑制活性存在一定差异,其活性的强弱为胚>内种皮>胚乳>中种皮>外种皮,且随浸提液浓度的增大,抑制作用逐渐增强。

关键词:南方红豆杉;种子;抑制物质

中图分类号:S791.49; S722.8 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-1522(2009)05-0078-06

YU Hai-lian; LI Feng-lan; ZHAO Cui-ge; GUO Hui-hong. **Germination inhibitors in seeds of *Taxus chinensis* var. *mairei*.** *Journal of Beijing Forestry University* (2009) **31**(5) 78-83 [Ch, 22 ref.] College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, 100083, P.R. China.

Organic compounds were identified from the methanol extract of *Taxus chinensis* var. *mairei* seeds using line separation and GC-MS methods and the variety and relative content of these compounds were measured. The results showed that organic acid, ester, amine, alcohol and ketone were main substances in the methanol extract. The inhibitory effect of acetic acid was confirmed and amine was first identified from the seeds of *T. chinensis* var. *mairei*. Also, the inhibitory effects of germination inhibitors in different parts of *T. chinensis* var. *mairei* seeds were analyzed comparatively by the bioassay of the ethanol extract from embryo, endosperm and testa. The results showed that each part of *T. chinensis* var. *mairei* seed contains some germination inhibitors, which had inhibitory effects on the germination rate and root growth of *Brassica pekinensis* seedlings. The inhibiting effects of inhibitors in these parts were different with the order of embryo > endopleura > endosperm > mesosperm > exopleura. The inhibitory effect is gradually reinforced with the increasing concentration of extracts.

Key words *Taxus chinensis* var. *mairei*; seed; inhibitor

南方红豆杉 (*Taxus chinensis* var. *mairei*) 是红豆杉科 (Taxaceae) 红豆杉属的一个常绿树种,为古老的第三纪孑遗植物,其树形挺拔姿态优美,材质坚硬致密、耐腐力强,从其植物体提取的紫杉醇 (Taxol) 是目前所发现的最有效且最安全的抗癌药物。因此,南方红豆杉是集药用、材用及观赏于一身的重要珍贵树种,具有极大的经济价值和社会效益^[1-2]。但由于其种子休眠时间长(自然条件下一般要经过两

冬一夏到第 3 年才能萌发),自然繁殖率低等原因,使野生资源分布较少,物种濒临灭绝。已被列为国家一级保护濒危珍稀植物^[3]。南方红豆杉种子深度休眠的这一生物学特性给其资源保育和开发利用等带来极大困难。

研究表明,植物种子休眠的原因主要包括种皮障碍、种胚发育状况和内源萌发抑制物 3 个方面^[4]。种子中含有的一些化学物质影响种子的后熟和发

收稿日期:2008-08-02

http://www.bjfujournal.cn; http://journal.bjfu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(30571473)。

第一作者:于海莲。主要研究方向:植物发育生物学。Email:yuhailian19835@163.com 地址:100083 北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者:郭惠红,副教授。主要研究方向:植物发育生物学。电话:010-62338717 Email:lindaquohuihong@163.com 地址:同上。

芽, 导致休眠^[5-18]。对南方红豆杉种子休眠研究已有一些报道, 普遍认为南方红豆杉种子难于萌发的主要原因是发芽抑制物质的存在^[19-22]。但这些研究基本都停留在对南方红豆杉种子发芽抑制物质抑制活性的生物测定上, 并未对南方红豆杉种子各部位(外种皮、中种皮、内种皮、胚乳、胚)抑制物质的抑制活性及抑制物质的分离鉴定进行系统的研究。南方红豆杉种子胚小, 长度仅为1~2 mm, 实验取材时存在难度, 胚内是否含有抑制物质也有待精确分析。本文拟通过系统分离、GC-MS 鉴定等方法对南方红豆杉种子的萃取液及各部位甲醇浸提液进行生物测定, 初步确定种子中可能具有发芽抑制活性物质的种类和相对含量。并分别对种子的胚、胚乳及3层种皮的甲醇浸提液进行生物测定, 分析比较种子各部位中是否存在发芽抑制物质及其抑制活性强弱的差别, 为深入研究南方红豆杉种子内源抑制物质与种子休眠的关系及进一步分离、鉴定其种子中的抑制物质以及更有针对性的采取有效措施打破种子休眠, 促进种子萌发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

所试南方红豆杉种子为当年采摘的新种子, 购自江西省九江市林业局。千粒重 64.73 g, 含水量约 20.49%。生物活性测定所用白菜 (*Brassica pekinensis*) 籽为市售白菜, 纯度 96%, 净度 98%, 发芽率 85% 以上, 含水量约 7%。

1.2 南方红豆杉种子发芽抑制物的提取及生物活性测定

取南方红豆杉种子 7 g, 用 -20℃ 预冷的 80% 甲醇冰浴研磨, 4℃ 浸提 36 h, 抽滤, 重复 2 次。合并滤液, 35℃ 减压浓缩至 7 mL (浓度为: 1 g/mL) 采用系统分离的方法分离提取抑制物质(图 1)。

将 A、B、C、D 相萃取液在 35℃ 减压浓缩, 进行生物测定。分别取各相浓缩液 2 mL 于直径为 9 cm 的培养皿中(对照以同体积的蒸馏水替代)。待乙醚挥发至干后, 每皿加入 2 mL 蒸馏水, 放置 35 粒白菜籽, 白菜籽用前在 40℃ 水浴中浸泡 20 min。每处理 3 个重复, 于 25℃ 恒温光照培养箱中培养, 36 h 后统计白菜籽的发芽率(以胚根长于白菜籽直径为发芽标准), 72 h 后测量胚根长。

1.3 南方红豆杉种子中发芽抑制物质的鉴定

将 1.2 中得到的 B、C、D 相 3 种萃取液分别转移 60 μL 至毛细管中, 真空干燥器中抽干, TMS 化处理后在北京林业大学生物中心进行 GC-MS 鉴定。GC-MS 气相色谱质谱连用仪仪器型号为 Trace

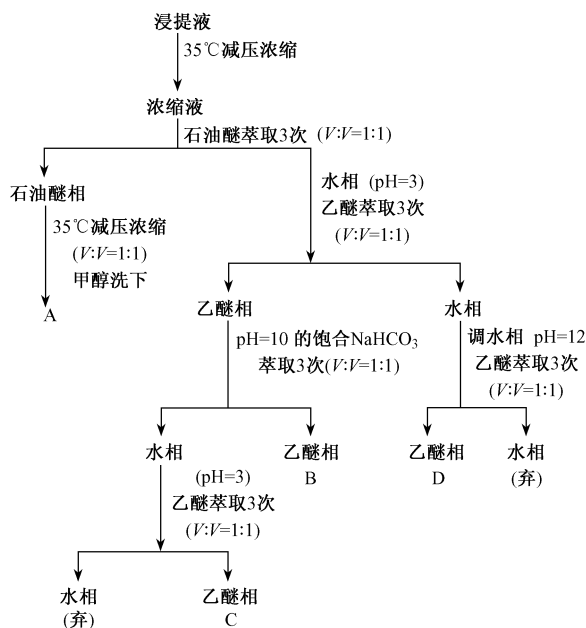


图 1 系统分离步骤示意图

FIGURE 1 Block diagram of line separation

2000-Voyager, Finnigan, ThermoQuest。气谱条件为 DB-1-30 m×0.25 mm (内径)×0.25 μm (膜厚度), 石英毛细管柱柱温为起始温度 50℃, 20℃/min 升高到 220℃, 1 min; 10℃/min 升高到 290℃, 40 min, 进样温度 280℃。载气为氦气, 0.8 mL/min。质谱条件为离子源 EI, 界面温度 250℃, 源温 200℃, 发射电流 150 μA, 电离电压 350 V, 扫描速度 0.7 s, 质量范围 29~800 amu, 进样量 2 μL, 4 min 时开始采样。由谱库检索, 参考保留值。

1.4 南方红豆杉种子甲醇浸提液中物质的相对含量测定

以离子流程图中每个峰面积与全部峰面积的比值代表该成分在总提取物质中的相对含量。

1.5 南方红豆杉种子各部位甲醇浸提液生物测定

分别取南方红豆杉种子的外种皮、中种皮、内种皮、胚、胚乳 5 部分, 按照 1.2 中的方法浸提。浸提液 35℃ 减压浓缩至浓度为 1 g/mL, 分别取一定体积浓缩液稀释至 0.2、0.4、0.6 g/mL 的浓度, 每个浓度 6 mL, 贮于 4℃ 备用。

分别取上述不同浓度的浸提液 2 mL (对照以同体积的蒸馏水替代), 进行生物活性测定, 方法同 1.2。

2 结果与分析

2.1 南方红豆杉种子发芽抑制物质对白菜种子发芽率和胚根长的影响

系统分离方法得到的南方红豆杉种子 A、B、C、D 4 相萃取液对白菜种子发芽率和胚根长的影响见表 1。

表1 萃取液对白菜种子发芽率和胚根长的影响

TABLE 1 Effects of extract on the percentage germination and root growth of *B. pekinensis* seedlings

萃取液种类	白菜种子发芽率/%	胚根长/cm
A相	88 aA	2.46 aA
B相	76 bB	0.51 dC
C相	74 bB	1.17 bB
D相	75 bB	0.74 cC
对照	89 aA	2.48 aA

注:大写字母表示 $\alpha=0.01$ 时的多重比较,小写字母表示 $\alpha=0.05$ 时的多重比较;同列字母相同为差异不显著,字母不同为差异显著。

由表1可知,白菜种子在A相萃取液培养条件下发芽率为88%,与对照(89%)接近;B、C、D 3相萃取液培养条件下白菜种子发芽率均明显小于对照,分别为76%、74%、75%。对于白菜种子胚根生长的影响也呈相似的趋势,其中以A相萃取液培养条件下胚根最长,为2.46 cm;D、C相次之;B相最短,为0.51 cm。方差分析结果表明,4种萃取液中,A相对白菜种子发芽率和胚根长的影响与对照相比差异不显著,B、C、D 3相结果与对照相比差异均达到显著或者极显著水平。可见南方红豆杉种子A相萃取液中无发芽抑制物质,B、C、D 3相萃取液中均含有发芽抑制物质,3种萃取液含有的抑制物质抑制活性为B相>D相>C相。

2.2 南方红豆杉种子甲醇浸提液中物质的GC-MS分析测定

2.2.1 南方红豆杉种子B相萃取液中化合物的种类和相对含量

采用GC-MS分析法鉴定了南方红豆杉种子B相萃取液的浓缩样品,共分离出27个峰。各峰经质谱扫描后的质谱图(略),通过质谱计算机数据系统检索并与标准图谱进行核对,选择离子流程图(略)中峰面积和相似度较大的有机化合物20种(表2)。其中含量较大的几种为:乙酸(14.728%)、苯甲酸(12.637%)、未知1(11.760%)、十二氢-1,1,3,6,9-五甲基-2,4,7,10,11-葡萄糖五乙酸酯(6.577%)、2-甲氧基-羟基苯乙酸乙酯(6.549%)、4,4-二甲基-1,3-联二苯-1-戊酮(5.518%)、9,12-十八碳二烯酸甘油酯(5.387%)、十六烷酸丙酯(5.163%)。

2.2.2 南方红豆杉种子C相萃取液中化合物的种类和相对含量

采用GC-MS分析法鉴定了南方红豆杉种子C相萃取液的浓缩样品,共分离出30个峰,选择离子流程图(略)中峰面积和相似度较大的有机化合物24种(表3)。其中含量较大的几种为:乙酸(14.633%)、2-羟基-3-乙基-2-丁稀酸(9.237%)、十六烷酸(8.421%)、十六烷酸丙酯(7.675%)、丙酸(5.011%)。

表2 南方红豆杉种子B相萃取液中化合物的种类和相对含量

TABLE 2 Compound kinds and their relative content in extract B of *T. chinensis* var. *mairei* seeds

时间/min	分子式	分子量	中文名	相对含量/%
7.07	C ₇ H ₆ O ₂	122	苯甲酸	12.637
7.56	C ₂ H ₄ O ₂	60	乙酸	14.728
10.19	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	4-羟基苯乙醇	1.570
11.56	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	175	瓜氨酸	2.501
11.71	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	358	正十二烷酸-2,3-二乙酰氧基丙酯	2.264
11.8	C ₉ H ₁₂ O ₂	152	3-对羟基苯丙醇	1.709
14.16	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182	4,5-二羟基苯丙醇	0.644
14.79	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	十四烷酸	2.417
17.55	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	十六烷烯酸	0.743
17.92	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	十六烷酸	4.520
20.19	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	9-十八碳烯酸	1.904
20.5	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	十八烷酸	1.803
22.75	C ₁₉ H ₂₂ O	266	4,4-二甲基-1,3-联二苯-1-戊酮	5.518
24.36	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	十六烷酸丙酯	5.163
26.16	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358	单硬脂酸甘油酯	3.718
28.10			未知1	11.76
28.70	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	210	2-甲氧基-羟基苯乙酸乙酯	6.549
29.0	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	354	9,12-十八碳二烯酸甘油酯	5.387
30.29	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	210	4-甲氧基-羟基苯乙酸乙酯	3.487
30.44	C ₃₀ H ₄₄ O ₁₁	580	十二氢-1,1,3,6,9-五甲基-2,4,7,10,11-葡萄糖五乙酸酯	6.549
合计				95.60

表3 南方红豆杉种子C相萃取液中化合物的种类和相对含量

TABLE 3 Compound kinds and their relative content in extract C of *T. chinensis* var. *maire*

时间/min	分子式	分子量	中文名	相对含量/%
5.33	C ₃ H ₆ O ₃	90	丙酸	5.011
6.58	C ₆ H ₁₀ O ₃	130	2-羟基-3-乙基-2-丁稀酸	9.237
7.06	C ₇ H ₆ O ₂	122	苯甲酸	4.372
7.31	C ₃ H ₈ O ₃	92	丙三醇(甘油)	1.483
7.55	C ₂ H ₄ O ₂	60	乙酸	14.633
7.92	C ₄ H ₁₀ O ₄	116	2-丁二酸	4.604
9.41	C ₇ H ₈ O ₂	124	4-羟基苯甲醇	1.127
9.87	C ₉ H ₈ O ₂	148	桂皮酸	1.634
10.92	C ₇ H ₆ O ₃	138	4-羟基苯甲酸	3.812
11.09	C ₈ H ₈ O ₃	153	4-羟基苯乙酸	0.933
11.55	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	175	瓜氨酸	4.068
11.70	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	358	正十二烷酸-2,3-二乙酰氧基丙酯	4.526
13.12	C ₆ H ₆ O ₆	174	丙烯三羧酸	2.560
13.38	C ₈ H ₈ O ₄	168	3-甲氧基-4-羟基苯甲酸	2.567
14.40	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182	4,5-二羟基苯丙醇	0.633
16.16	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194	3,4-二甲氧基-桂皮酸	0.918
16.40	C ₉ H ₈ O ₃	164	4-甲氧基-桂皮酸	1.459
17.92	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	十六烷酸	8.421
19.05	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	352	9,12,15-十八碳三烯酸	0.936
20.50	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	十八烷酸	4.384
24.35	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	十六烷酸丙酯	7.675
24.94			未知2	4.624
26.16	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358	单硬脂酸甘油酯	4.726
30.87	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	354	9,12-十八碳二烯酸甘油酯	0.699
合计				95.042

2.2.3 南方红豆杉种子D相萃取液中化合物的种类和相对含量

采用GC-MS分析法鉴定了南方红豆杉种子D相萃取液的浓缩样品,共分离出28个峰,选择离子流程图(略)中峰面积和相似度较大的有机化合物16种(表4)。其中含量较大的几种为:9-十八碳烯酸(14.275%)、2-羟基-3-乙基-2-丁稀酸(9.337%)、2,2,2-三氟乙酰胺(8.958%)、N,N,N,N'-四甲基-1,2-联苯乙二胺(7.856%)、苯甲酸(7.773%)、未知3(7.525%)、乙酸(6.127%)、1-羟基-丙酸(5.979%)、瓜氨酸(5.063%)。

表4 南方红豆杉种子D相萃取液中化合物的种类和相对含量

TABLE 4 Compound kinds and their relative content in extract D of *T. chinensis* var. *mairei* seeds

时间/min	分子式	分子量	中文名	相对含量/%
5.33	C ₃ H ₆ O ₃	90	1-羟基-丙酸	5.979
5.43	CF ₃ CONH ₂	113	2,2,2-三氟乙酰胺	8.958
6.58	C ₆ H ₁₀ O ₃	130	2-羟基-3-乙基-2-丁稀酸	9.337
7.06	C ₇ H ₆ O ₂	122	苯甲酸	7.773
7.31	C ₃ H ₈ O ₃	92	丙三醇(甘油)	3.205
7.55	C ₂ H ₄ O ₂	60	乙酸	6.127
9.15	C ₁₀ H ₁₅ N	149	N,N'-二甲基-1-苯乙胺	2.746
10.53	C ₁₈ H ₂₄ N ₂	248	N,N,N,N'-四甲基-1,2-联苯乙二胺	7.856
11.54	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	175	瓜氨酸	5.063
11.69	C ₁₉ H ₃₄ O ₆	358	正十二烷酸-2,3-二乙酰氧基丙酯	4.551
16.82	C ₆ H ₈ O	96	1-亚甲基-环丙烷	0.993
17.90	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	十六烷酸	4.238
20.19	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	9-十八碳烯酸	14.275
20.50	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	十八烷酸	3.319
24.34	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330	十六烷酸丙酯	2.202
26.01			未知3	7.525
合计				94.15

从以上结果可知:萃取液B、C相中检测到的化合物主要为有机酸类、酯类、醇类等,D相萃取液中检测到的化合物除以上三类外还有胺类,烷类等化合物。

因此,从南方红豆杉种子浸提液中检测到的化合物共39种,分别为:①有机酸类,其中含量较大的化合物为乙酸、苯甲酸、十六烷烯酸、9-十八碳烯酸等。②酯类,十六烷酸丙酯、单硬脂酸甘油酯、2-甲氧基-羟基苯乙酸乙酯等。③醇类,4-羟基苯乙醇、3-对羟基苯丙醇、4,5-二羟基苯丙醇等。④胺类,2,2,2-三氟乙酰胺、N,N'-二甲基-1-苯乙胺等;此外还有酮类和烷类物质以及一些未知物质的存在。其中,前人工作已确定有抑制作用的是乙酸^[11],其他主要化合物是否具有抑制作用及其与种子休眠的关系尚待进一步研究。

2.3 南方红豆杉种子各部位甲醇浸提液对白菜种子萌发和胚根生长的影响

从图2中可知,浸提液浓度为0.2 g/mL时,外种皮、中种皮、内种皮、胚乳浸提液培养条件下白菜种子发芽率均在80%以上,胚浸提液培养条件下白菜种子发芽率仅为16%。浸提液浓度为0.4 g/mL时,外种皮、中种皮对应的白菜种子发芽率仍在80%以上,内种皮、胚乳对应的白菜种子发芽率分别降至78%、73%,胚对应的白菜种子发芽率降至7%。当浸提液浓度增大到0.6 g/mL时,4个部位对应白菜种子发芽率明显降低,小于或等于10%;其中胚对应的白菜种子的萌发完全受到抑制,萌发率为零。

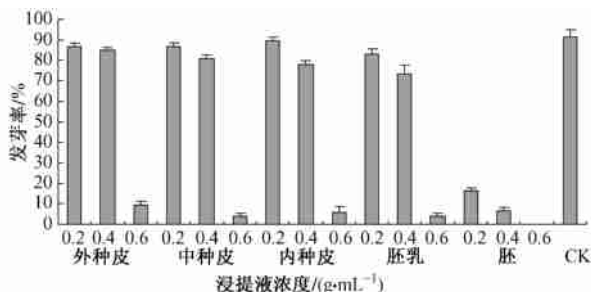


图2 南方红豆杉种子各部位浸提液对白菜种子发芽率的影响

FIGURE 2 Effects of the extract from different parts of *T. chinensis* var. *mairei* seeds on the percentage germination of *B. pekinensis* seedlings

从图3中可知,种子5个部位的浸提液,在各个浓度下对应的白菜种子胚根的生长均明显差于对照。浸提液浓度为0.2 g/mL时,外种皮对应的白菜种子胚根最长,为0.72 cm;中种皮、胚乳、内种皮次之,分别为0.57、0.51、0.42 cm;胚对应的白菜种子长势最差,白菜胚根长仅为0.27 cm。在浸提液浓度为0.4、0.6 g/mL时,各部位对白菜种子胚根生长的抑制作用逐渐增强,胚浸提液培养条件下的白菜种子长势最差,在0.6 g/mL时,白菜种子已经不能发芽生长。

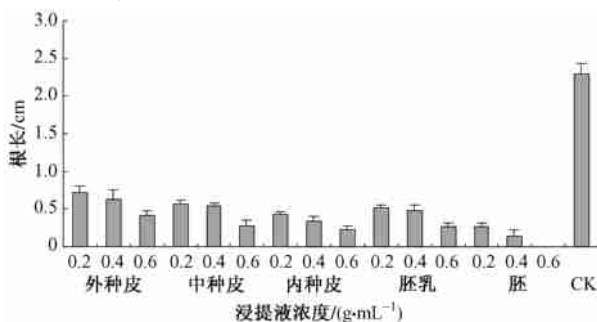


图3 各部位浸提液对白菜种子胚根生长的抑制作用
FIGURE 3 Inhibitory effects of the extract from different parts of *T. chinensis* var. *mairei* seeds on the root length of *B. pekinensis* seedlings

由此可知,南方红豆杉种子各部位甲醇浸提液对白菜种子发芽率及胚根生长均有一定的抑制作用。随着浸提液浓度的增加,抑制物质的抑制活性逐渐增强,导致白菜种子发芽率逐渐降低,胚根生长

受到的抑制作用逐渐增强。

方差分析结果表明:南方红豆杉种子各部位浸提液对白菜种子发芽率和根长生长的影响与对照相比在 0.01 水平下差异显著(表 5)。

表 5 南方红豆杉种子各部位浸提液对白菜种子发芽率和胚根长影响的方差分析

TABLE 5 Variance analysis results of different parts' extracted solutions of *T. chinensis* var. *mairei* seeds on the growth of *B. pekinensis* seedlings

项目	浓度/(g·mL ⁻¹)	自由度	F	P	项目	浓度/(g·mL ⁻¹)	自由度	F	P
发芽率	0.2	5	487.899	0.000**	根长	0.2	5	313.350	0.000**
	0.4	5	835.089	0.000**		0.4	5	227.447	0.000**
	0.6	5	779.007	0.000**		0.6	5	445.560	0.000**

注:**表示在 0.01 水平下差异显著。

结果分析表明:南方红豆杉种子各部位均含有抑制种子萌发和幼苗生长的物质,且它们对白菜种子生长的抑制作用明显且存在差异,其活性的强弱表现为胚>内种皮>胚乳>中种皮>外种皮。

3 讨 论

植物种子中存在萌发抑制物质是导致种子休眠的一个主要因素^[4]。前人的一些工作主要是通过浸提和生物活性测定的方法,推测南方红豆杉种子中存在一些发芽抑制物质^[19-22],但基本未对种子中的抑制物质做进一步的分离鉴定,而且也未对种子中抑制物质的抑制活性和其所在的部位做深入系统的研究。在植物种子休眠机理的研究中,曾有一些报道推测酚酸类、酯类及一些碱性物质可能是种子中存在的萌发抑制物质^[5-18]。对南方红豆杉种子内源抑制物质的分离鉴定的报道不多,目前仅有一篇。该研究指出南方红豆杉中的抑制物质主要为酸性及酯类物质^[22]。但其方法不够完善,未对浸提液做系统分离,得到的抑制物质种类较单一且数量较少。本实验结合浸提、系统分离、GC-MS 鉴定的方法从南方红豆杉种子甲醇浸提液中分离鉴定出多种物质,主要为有机酸类、酯类、胺类、醇类和酮等。其中有机酸 19 种,含量较大的为乙酸、苯甲酸、9-十八碳烯酸等;酯类化合物 7 种,含量较大的为十二氢-1,1,3,6,9-五甲基-2,4,7,10,11-葡萄糖五乙酸酯、2-甲氧基-羟基苯乙酸乙酯、十六烷酸丙酯等;胺类化合物 3 种:2,2,2-三氟乙酰胺、N,N,N,N'-四甲基-1,2-联苯乙二胺、N,N'-二甲基-1-苯乙胺;醇类化合物 5 种及一种酮类和烷类物质,但相对含量较低。目前,碱性物质的分离鉴定较少,而种子中碱性物质的存在也可能与种子的休眠有密切的关系,本实验分离出的 3 种胺类化合物在南方红豆杉种子休眠研究中还未见报道。在上述分离鉴定出的物质中,仅有乙酸的萌发抑制活性已证实^[11],其他物质的萌发抑制活性,需要采用标准品鉴定进一步证实。

种子不同部位中存在的萌发抑制物质都可能导致种子的休眠。周仁超等^[12]研究紫斑牡丹(*Paeonia suffruticosa* var. *papaveracea*)种子休眠的原因指出,胚的上胚轴或胚芽中存在的发芽抑制物质抑制胚的萌发。欧洲白蜡树(*Fraxinus excelsior*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、苹果(*Malus pumila*)等种子胚部子叶中存在的萌发抑制剂不仅使其本身不能生长,而且扩散至胚轴中抑制胚中轴的生长,导致种子的休眠^[13]。Welbaum 等^[14]和 Amritphale 等^[15]指出,葫芦科(*Cucurbitaceae*)种子外胚乳中存在的抑制物质 ABA 能够通过抑制 β -1,3-葡聚糖酶的表达影响外胚乳中含物的代谢,从而抑制珠孔端胚乳的降解与破裂,延缓种子的萌发。牡丹(*Paeonia suffruticosa*)种子胚乳内含有的酚类物质会减缓上胚轴细胞分裂的速度使上胚轴生长较胚根缓慢,导致上胚轴休眠^[16]。郑彩霞等^[17]指出洋白蜡(*Fraxinus pennsylvanica*)种子胚以外包被组织中的一些抑制物抑制胚的萌发。白柯君等^[18]指出燕山红栗(*Castanea mollissima* cv. *Yanshanhong*)种皮中的 P-香豆酸可能是抑制种子萌发的一个重要原因。在对南方红豆杉种子休眠的研究中,研究者认为南方红豆杉种子胚乳和外种皮中存在的抑制物质影响种子的萌发^[19-20]。本实验对南方红豆杉种子各部位浸提液进行生物测定的结果表明:其种子 5 个部位中均含有一定的萌发抑制物质。其中,抑制物活性最强的部位是胚,内种皮、胚乳、中种皮次之,外种皮最弱。因此,推测南方红豆杉种子各个部位中含有的不同抑制活性的萌发抑制物质是其种子深度休眠的一个重要原因。另一方面,在研究中也发现南方红豆杉种子成熟时胚发育不够完全,需要一个胚的后熟阶段,这是造成其种子休眠的另一个原因。因此推测胚中存在的萌发抑制物质可能是种子成熟时胚发育不完全及影响胚进一步分化和发育的重要因素。其胚虽小,长度仅为 1~2 mm,抑制物质活性却最强,胚中含有的抑制物质对南方红豆杉种子休眠的影响

不容忽视。

综上所述,本实验分离到的,与南方红豆杉种子休眠相关的萌发抑制物质的抑制活性,还需进一步采用标准品鉴定。他们在种子后熟和萌发过程中的消长变化规律及与种子休眠的关系还需进一步研究,从而在更深层面上揭示其种子休眠的机理,为快速打破南方红豆杉种子的休眠提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] VIDENSEK N, LIM P, CAMPBELL A, et al. Taxol content in bark, wood root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus species* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6):1 609.
- [2] ALEANDER R W. Teasing apart the taxol pathway [J]. *Trends Biochem Sci*, 2001, 26: 152.
- [3] 傅瑞树,朱建华. 福建南方红豆杉资源保护与可持续利用探讨[J]. 福建林业科技, 2003, 30(1): 53-56.
- [4] A A 卡恩. 种子休眠和萌发的生理生化[M]. 北京:农业出版社, 1989: 37-40.
- [5] KROCK B, SCHMIDT S, HERTWECK C, et al. Vegetation-derived abscisic acid and four terpenes enforce dormancy in seeds of the post-fire annual, *Nicotiana attenuata* [J]. *Seed Science Research*, 2002, 12: 239-252.
- [6] ALORESI A, GESTIN C, LEYDECKER M T, et al. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2005, 28: 500-512.
- [7] ALVARADO V, BRADFORD K J. Hydrothermal time analysis of seed dormancy in true (botanical) potato seeds [J]. *Seed Science Research*, 2005, 15: 77-88.
- [8] BAIR N B, MEYER S E, ALLEN P S. A hydrothermal after-ripening time model for seed dormancy loss in *Bromus tectorum* L. [J]. *Seed Science Research*, 2006, 16: 17-28.
- [9] BASKIN C C, BASKIN J M. Underdeveloped embryos in dwarf seeds and implications for assignment to dormancy class [J]. *Seed Science Research*, 2005, 15: 357-360.
- [10] CHING T C, LING L H, TSAN P L. Changes in ultrastructure and abscisic acid level and response to applied gibberellins in *Taxus mairei* seeds treated with warm and cold stratification [J]. *Annals of Botany*, 1998, 81: 41-47.
- [11] 韩宝瑞,李向高,黄耀阁. 西洋参果肉中发芽抑制物质研究 [J]. 特产研究, 1999(3): 11-13.
- [12] 周仁超,姚崇怀,潘俊,等. 紫斑牡丹种子休眠和萌发特性初步研究 [J]. 湖北农业科学, 2002(1): 59-60.
- [13] 颜育民. 种子休眠综述 [J]. 种子, 1995(4): 32-36.
- [14] WELBAUM G E, BRADFORD K J, YIM K O, et al. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination [J]. *Seed Science Research*, 1998, 8: 161-172.
- [15] AMRITPHALE D, YONEYAMA K, TAKEUCHI Y, et al. The modulating effect of the perisperm-endosperm envelope on ABA-inhibition of seed germination in cucumber [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56: 2 173-2 181.
- [16] 景新明,郑光华. 4种野生牡丹休眠和萌发特性及其与致源的关系 [J]. 植物生理学报, 1999, 25(3): 214-221.
- [17] 郑彩霞,高荣孚. 脱落酸和内源抑制剂对洋白蜡种子休眠的影响 [J]. 北京林业大学学报, 1991, 13(4): 39-46.
- [18] 白柯君,郭素娟,石青莲. 燕山红栗种子休眠与种胚形态、种皮及内含物的关系 [J]. 西南林学院学报, 2005, 25(4): 106-109.
- [19] 谭一凡. 南方红豆杉种子后熟生理的研究 [J]. 中南林学院学报, 1991, 11(2): 200-206.
- [20] 朱念德,刘蔚秋,伍建军,等. 影响南方红豆杉种子萌发因素的研究 [J]. 中山大学学报(自然科学版), 1999, 38(2): 75-79.
- [21] 张志权,谬文波,钟翎,等. 南方红豆杉种子萌发生物学研究 [J]. 林业科学研究, 2000, 13(3): 280-285.
- [22] 张艳杰,高捍东,鲁顺保. 南方红豆杉种子中发芽抑制物的研究 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2007, 31(4): 51-56.

(责任编辑 赵 勃)