

余晓东,张 鹏,宋发军,等. 重楼种子外种皮提取物对水稻种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):96-98.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.025

重楼种子外种皮提取物对水稻种子萌发 及幼苗生长的影响

余晓东,张 鹏,宋发军,刘 佳,席晓圆,于鹏飞

(中南民族大学生命科学院/生物技术国家民委重点实验室/武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室,湖北武汉 430074)

摘要:研究重楼种子外种皮提取物有机酸、生物碱、酚类对水稻种子萌发的影响。分别采用碱提酸沉法、酸提法、乙醇浸提法提取重楼种子外种皮中的有机酸、生物碱、酚类,梯度稀释后处理水稻种子,分析提取物对水稻种子 48 h 的萌发率、第 10 天对苗高、鲜质量以及胚根长的影响。以蒸馏水(CK)作对照。试验结果,3 类提取物与 CK 相比,在 2.5~50.0 mg/mL 的处理浓度范围内对水稻种子 48 h 的萌发率、第 10 天的苗高、鲜质量、胚根长都有抑制作用。在 2.5~5.0 mg/mL 的低浓度范围内,3 类提取物对种子萌发率的抑制作用相差不大,对苗高、鲜质量抑制作用的强弱顺序依次是酚类>生物碱>有机酸,而在 10~50 mg/mL 的高浓度范围内,3 类提取物对种子萌发率、苗高、鲜质量的抑制作用的强弱顺序依次为:生物碱>酚类>有机酸。此外,还发现每类提取物对胚根长度的抑制作用要强于对其他指标的抑制,且在整个处理浓度范围内抑制作用的强弱顺序是:生物碱>酚类>有机酸。通过研究明确了 3 类物质对种子萌发抑制作用的效果,确定了有机酸、生物碱、酚类是存在于重楼种子外种皮中的 3 类萌发抑制物,研究结果为深入研究重楼种子的休眠机制提供了理论依据。

关键词:重楼种子;外种皮;有机酸;生物碱;酚类;萌发

中图分类号: Q945.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)01-0096-03

重楼又名七叶一枝花^[1],为百合科重楼属重要药用植物^[2]。重楼种子休眠程度高,自然条件下需要两冬一夏才能萌发,且萌发率低。种皮吸水障碍、胚休眠和种子中存在抑制类物质是种子休眠的三大原因^[3]。常见的萌发抑制物有有机酸、生物碱、酚类、醛类、不饱和内酯、脱落酸、芳香油、芥子油、气体物质等^[4]。滇重楼的外种皮肉质多汁,樱红色,具有角质层,在维持种子休眠中起着重要作用^[5],然而重楼种子外种皮中是否存在萌发抑制物却鲜有报道。本研究采用碱提酸沉法、酸提法、乙醇浸提法提取重楼种子外种皮中的有机酸、生物碱、酚类物质,并研究 3 类物质对水稻种子萌发的影响,以期确定外种皮中是否存在萌发抑制物,为深入研究重楼种子的休眠机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料 重楼外种皮:2013 年 9—10 月于湖北省恩施州巴东县采集重楼种子后,脱去外种皮,并将其烘干至恒重备用。

1.1.2 试剂 饱和盐酸乙醚、碳酸氢钠、无水乙醇、冰乙酸、浓盐酸、乙酸乙酯,均为国产分析纯。

收稿日期:2015-01-22

基金项目:国家自然科学基金(编号:31370118);中南民族大学研究生学术创新基金(编号:2014syxjj107)。

作者简介:余晓东(1989—),男,硕士研究生,主要从事重楼多样性分析及种子快繁研究。

通信作者:宋发军,教授,主要从事应用生物化学研究。E-mail: songfajun@mail.scuec.edu.cn。

1.1.3 仪器 JP-150A 型高速多功能粉碎机,永康市久品工贸有限公司生产;RK1028 型超声波清洗机,BANDELIN SONOREX SUPER;5810R 型台式大容量冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司生产;RE-52 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂生产。

1.2 方法

1.2.1 3 类物质提取与梯度稀释 有机酸、生物碱、酚类的提取分别采用碱提酸沉法^[6]、酸水提取法^[7]、乙醇浸提法^[8]。3 种提取液母液浓度均为 50 mg/mL。准确称取 10 g 外种皮粉末,按上述方法提取,将得到的 3 种提取液蒸干后再用蒸馏水定容至 200 mL,并分别按 2、5、10、20 倍进行稀释,得到浓度分别为 25.0、10.0、5.0、2.5 mg/mL 的梯度稀释液。

1.2.2 浸种及培养 水稻种子在 37℃ 条件下浸种 12 h 后置于铺有双层纱布的培养皿中,每皿 50 粒种子,并分别用 10 mL 5 种浓度的 3 种提取液处理水稻种子,蒸馏水作对照(CK),每个处理 3 次重复。室温培养 10 d,培养过程中根据皿中种子的干湿情况,加入 2~5 mL 处理液。

1.2.3 指标测定 浸种 48 h 开始统计水稻种子萌发率,第 10 天测定水稻幼苗苗高、鲜质量、胚根长度,并按[相对抑制率=1-处理/对照]×100%,计算提取物对水稻幼苗胚根长的相对抑制作用。

1.3 统计分析

采用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 对数据进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 提取物对水稻种子萌发率的影响

3 类提取物对水稻种子萌发都有一定的影响,并随着浓

度增加,对水稻种子萌发的抑制作用逐渐增强(图1)。与对照相比,2.5 mg/mL的有机酸对水稻种子萌发的抑制作用不明显,5~25 mg/mL的有机酸对水稻种子萌发的抑制作用显著,但各个浓度间差异不明显,而50 mg/mL的有机酸对水稻种子萌发的抑制作用更强,萌发率与对照相比降低了15%。生物碱在2.5~50.0 mg/mL的浓度范围内,随着浓度增加,对水稻种子萌发的抑制作用逐渐增强,且抑制作用极显著,而当浓度为25、50 mg/mL时,水稻种子已不再萌发。酚类提取物在2.5~10.0 mg/mL的浓度范围内对水稻种子萌发无明显影响,而在25~50 mg/mL时对水稻种子萌发的抑制作用极显著,萌发率迅速降低。结果表明,在2.5~5.0 mg/mL的低浓度范围内,3类提取物对水稻种子萌发的抑制作用相差不大,而在10~50 mg/mL的高浓度范围内,生物碱的抑制作用最强,酚类次之,有机酸最弱。

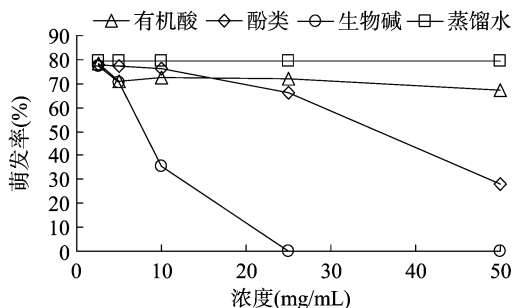


图1 重楼提取物对水稻种子萌发率的影响

2.2 提取物对水稻幼苗苗高和鲜质量的影响

提取物对水稻幼苗苗高和鲜质量的影响见图2、图3。与对照相比,2.5~10.0 mg/mL的有机酸对苗高、鲜质量的影响不明显,但在25~50 mg/mL时,有机酸对苗高、鲜质量的抑制作用极显著,当浓度为50 mg/mL时,水稻苗高、鲜质量分别下降了69.4%、21.4%。生物碱在2.5~50.0 mg/mL对苗高、鲜质量的抑制作用均为极显著,且抑制作用随着浓度的升高而增强,与对水稻种子萌发率的抑制效果相吻合。酚类在2.5~25.0 mg/mL的浓度范围内对苗高、鲜质量的抑制极显著,但不同浓度间差异不显著,而当浓度增至50 mg/mL时,其抑制作用达到最强,苗高、鲜质量分别降低了77.9%、31.2%。与对水稻种子萌发率的抑制不同的是,在2.5~5.0 mg/mL的低浓度范围内,3类提取物对苗高、鲜质量抑制作用的强弱顺序依次是酚类>生物碱>有机酸,而在10~50 mg/mL的高浓度范围内,抑制作用的强弱顺序依次是生物碱>酚类>有机酸。

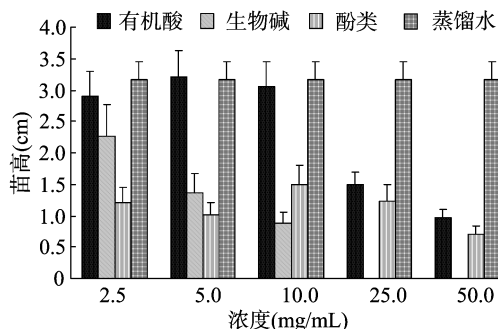


图2 重楼提取物对水稻幼苗苗高的影响

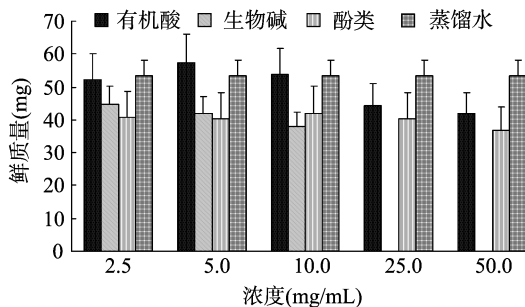


图3 重楼提取物对水稻幼苗鲜质量的影响

2.3 提取物对水稻幼苗胚根生长的影响

3类提取物对幼苗胚根生长的抑制最为明显,且随着浓度增大,抑制作用逐渐增强(图4)。当有机酸、生物碱、酚类3类提取物的浓度均为2.5 mg/mL时,它们对胚根长的相对抑制率分别为2.5%、88.2%、75.2%,而当浓度升为50 mg/mL,相对抑制率竟高达70.9%、100.0%、99.7%(图5)。综上所述,抑制作用的强弱顺序是生物碱>酚类>有机酸。3类提取物对种子萌发及幼苗生长的影响见图6。

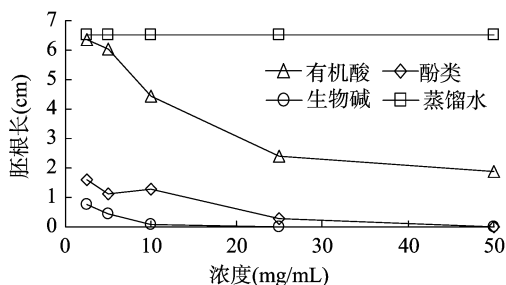


图4 重楼提取物对水稻幼苗胚根长的影响

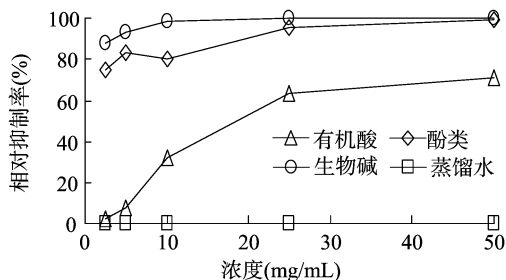
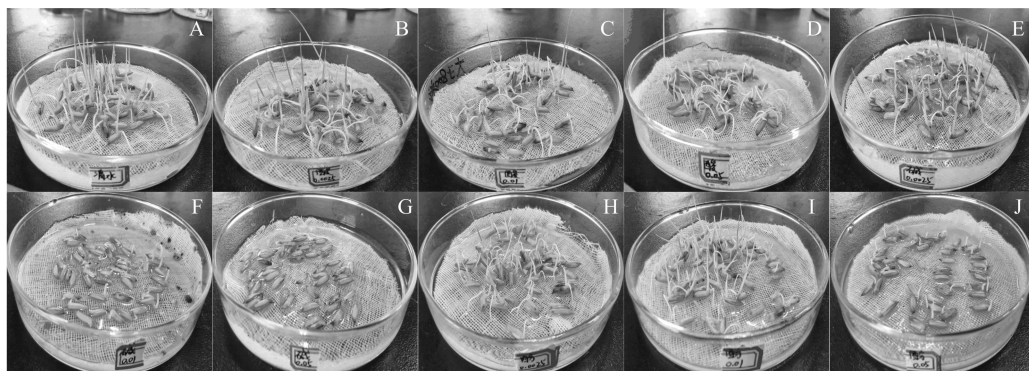


图5 重楼提取物对水稻幼苗胚根长的相对抑制率

3 讨论

研究表明,种胚发育不完全,种子中存在萌发抑制物是重楼种子休眠的主要原因^[9]。古今等发现滇重楼种皮和种子中均存在着一定活性的抑制物质,且抑制物质的活性随着提取液浓度的增加而增加,种子是抑制物质存在的主要部位,抑制物的活性比种皮中的明显^[10]。黄玮等研究发现,滇重楼种子的萌发抑制物质只存在于种子中,外种皮中并无萌发抑制物的存在,外种皮的抑制作用可能是疏水的外种皮阻止了萌发抑制物质的溢出^[9]。与上述研究结论不同的是,王跃华等研究发现,华重楼种子外种皮的水提液对青菜、榨菜、白菜3种植物种子的萌发以及幼苗生长都具有明显抑制作用^[11]。因此,外种皮中是否存在萌发抑制物及含有的萌发抑制物类型需要进行深入研究。



B~D、E~G、H~J分别为2.5、10.0、50.0 mg/mL的有机酸、生物碱、酚类处理, A为蒸馏水对照

图6 重楼提取物对水稻种子萌发及幼苗生长的影响

本研究结果,3类提取物在2.5~50 mg/mL的处理浓度范围内对水稻种子萌发率、苗高、鲜质量、胚根长都有抑制作用,且随着浓度增大,抑制作用逐渐增强。在2.5~5.0 mg/mL的低浓度范围内,3类提取物对种子萌发率的抑制作用相差不大,对苗高和鲜质量抑制作用强弱顺序依次是酚类>生物碱>有机酸,而在10~50 mg/mL的高浓度范围内,3类提取物对种子萌发率、苗高、鲜质量的抑制作用的强弱顺序依次为:生物碱>酚类>有机酸。3类提取物对胚根长的抑制作用要强于对其他指标的抑制,在整个处理浓度范围内抑制作用的强弱顺序依次为:生物碱>酚类>有机酸。

Cruz-Chacón等发现,当异叶番荔枝种子吸胀和萌发时,与苜蓿异喹啉生物碱合成有关的4种酶在发育的胚中均被监测到存在激活现象,而胚乳中并无酶活力,表明生物碱的合成与胚的早期生长发育密切相关^[12]。Muscolo等发现,从2种不同植被的森林土壤中提取的酚类物质对自拉瑞斯欧松树种子萌发均存在抑制作用,而这些种子未萌发和糖酵解及磷酸戊糖途径中所涉及到的酶的活力受到抑制强烈相关^[13]。姚军等发现,邻苯二甲酸、苯甲酸和肉桂酸均抑制了加工番茄不同品种种子的萌发,表现在萌发率、胚根长较对照均有显著降低,而且随有机酸浓度的增加,这种抑制程度也逐渐增强^[14]。本研究分析了重楼外种皮中有机酸、生物碱、酚类对水稻种子萌发的影响,比较其对种子萌发及幼苗生长抑制作用的强弱,最终确定了重楼外种皮中存在这3类萌发抑制物。研究结果可为进一步阐明重楼外种皮中萌发抑制物的类型、深入研究重楼种子的休眠机制提供理论依据。

参考文献:

- [1]朱丽丽,李惠芬. 重楼皂苷对SGC-7901细胞增殖抑制及诱导凋亡的实验研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(6):1501-1502.
- [2]魏超. 产皂苷的重楼内生真菌的分离、鉴定及退化研究[D]. 雅安:四川农业大学,2011.
- [3]孟繁蕴,汪丽娅,张文生,等. 滇重楼种胚休眠和发育过程中内源激素变化的研究[J]. 中医药学报,2006,34(4):36-38,64.
- [4]孙佳,郭江帆,魏朔南. 植物种子萌发抑制物研究概述[J]. 种子,2012,31(4):57-61.
- [5]Zhou L G, Wu J Y, Wang S L. Low-temperature stratification strategies and growth regulators for rapid induction of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* seed germination[J]. Plant Growth Regulation, 2003, 41:179-183.
- [6]陈琦,王尚. 鹅不食草总有机酸的提取与分析[J]. 中国现代药物应用,2010,4(18):10-11.
- [7]邱天尧,许彧. 苦豆子提取工艺的比较研究[J]. 黑龙江医药,2007,20(4):338-339.
- [8]黄午阳,刘文旭,王兴娜,等. 草莓酚类物质提取工艺条件的优化[J]. 南方农业学报,2013,44(7):1173-1177.
- [9]黄玮,孟繁蕴,张文生,等. 滇重楼种子休眠机理研究[J]. 中国农学通报,2008,12(12):242-246.
- [10]古今,吴梅,李文春,等. 滇重楼种子中萌发抑制物质活性的研究[J]. 现代中药研究与实践,2013(1):10-12.
- [11]王跃华,田孟良,蒋婷婷,等. 华重楼种子外种皮的化感作用研究[J]. 西南农业学报,2012,25(1):340-342.
- [12]Cruz-Chacón I D, González-Esquinca A R. Activities of enzymes catalyzing benzyloquinoline alkaloid biosynthesis in *Annona diversifolia* Saff. during early development[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2013, 60(6):791-799.
- [13]Muscolo A, Panuccio M R, Sidari M. The effect of phenols on respiratory enzymes in seed germination[J]. Plant Growth Regulation, 2001, 35(1):31-35.
- [14]姚军,秦勇,吕瑛. 不同有机酸对加工番茄种子萌发的化感效应[J]. 种子,2007,26(8):36-38.