

# 南方红豆杉种子甲醇浸提液中不同萃取成分 对白菜种子的抑制作用研究

张艳杰<sup>1</sup>, 鲁顺保<sup>1</sup>, 高捍东<sup>2\*</sup>

(1. 江西师范大学 生命科学学院, 江西 南昌 330022; 2. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

**摘要:**通过生物检测方法研究南方红豆杉种子的种皮和胚乳甲醇提取物中的石油醚、乙醚和乙酸乙酯萃取相成分对白菜发芽及生长的影响,通过 GC-MS 联用仪进一步分离和鉴定化合物成分,并采用反对数法分别确定它们的有效抑制浓度。结果表明:胚乳和种皮石油醚、乙醚和乙酸乙酯相溶液处理的白菜籽发芽率分别降低 16、63、66 和 59、47、84 个百分点;胚乳和种皮石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜苗高分别为对照的 38.41%、37.97%、35.72% 和 37.18%、38.87%、38.07%;胚乳石油醚、乙醚和乙酸乙酯相浓度处理的白菜根长分别为对照的 53.91%、11.17%、17.69% 和 11.84%、19.42%、11.51%。经质谱分析得出有机酸类、苯类、酯类等共 14 种有机化合物,其中含量较高的十六酸、十八酸、苯甲酸和乙酸等不同程度地抑制白菜胚根的生长,差异达显著与极显著水平,且随浓度增大抑制作用越强。在一定浓度范围内油酸能促进白菜胚根的生长,但随浓度增加促进作用降低。十六酸、十八酸、苯甲酸和乙酸对白菜胚根的生长的抑制中浓度 ( $IC_{50}$ ) 分别是 3 112 053, 2 890 754, 429 632, 4 272 776  $\mu\text{L/L}$ 。

**关键词:**南方红豆杉;种子;提取液;气相色谱-质谱联用

**中图分类号:** S634.3.04 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2286(2010)03-0553-07

## Inhibition of Different Extraction Components of Methanol Soaked from Seed of *Taxus chinensis* var. *mairei* on Cabbage Seed

ZHANG Yan-jie<sup>1</sup>, LU Shun-bao<sup>1</sup>, GAO Han-dong<sup>2\*</sup>

(1. College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 2. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

**Abstract:** The effects of the extraction of petroleum ether, aether and ethyl acetate of methanol soaked from seed coat and endosperm of *Taxus chinensis* var. *mairei* on the germination rates and growth of cabbage were investigated through bioassay method. All the compositions were isolated and identified by GC-MS, while the concentrations of inhibitors were determined by contrary-logarithm. The results showed that germination rates of cabbage seeds treated with petroleum ether, ethyl ether and ethyl acetate phase of endosperm and seed coat dropped 16, 63, 66 and 59, 47, 84 points of percentage respectively. Seedling heights of cabbage treated with petroleum ether, ethyl ether and ethyl acetate phase of endosperm and seed coat were respectively 38.41%, 37.97%, 35.72% and 37.18%, 38.87% and 38.07% of the controlled ones. Seedling root lengths of cabbage treated with petroleum ether, ethyl ether and ethyl acetate phase of endosperm and seed coat were respectively 53.91%, 11.17%, 17.69% and 11.84%, 19.42%, 11.51% of the contrasts. There were

收稿日期: 2010-03-03 修回日期: 2010-05-09

基金项目: 江西省教育厅青年科学基金项目 (GJJ10093) 和江西师范大学博士启动基金项目 (2230)

作者简介: 张艳杰 (1978-), 女, 副教授, 博士, 主要从事种苗学研究, E-mail: yanjiezhang0710@126.com; \* 通讯作者: 高捍东, 教授, 博士生导师, E-mail: gaohd@nifu.com.cn

organic acids, benzene, esters and in the total 14 types of organic compounds through GC-MS. Root growth of Chinese cabbage was inhibited by n-hexadecanoic acid, octadecanoic acid, benzoic acid and acetic acid of seed compositions. The compounds had significant inhibition effect on the radicle length of cabbage, while the inhibition was more intensive to the increase of the concentration of inhibitors. The oleic acid could promote cabbage growth in a certain range, but the promotion function reduced with the increase of concentration.  $IC_{50}$  of n-hexadecanoic acid, octadecanoic acid, benzoic acid and acetic against the radicle growth of Chinese cabbage were 3 112 053  $\mu\text{L/L}$ , 2 890 754  $\mu\text{L/L}$ , 429 632  $\mu\text{L/L}$  and 4 272 776  $\mu\text{L/L}$ .

**Key words:** *Taxus chinensis var mairei*; seed; extract; gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS)

南方红豆杉 (*Taxus chinensis var mairei* Cheng e L. K. Fu) 属红豆杉科红豆杉属珍稀植物, 是红豆杉属植物在中国分布最广泛的一种, 主要分布于长江流域、南岭山脉山区及河南、陕西 (秦岭)、甘肃、台湾等省的山地或溪谷, 为国家一级保护树种<sup>[1]</sup>。由于南方红豆杉可提取抗癌活性成分紫杉醇 (Taxol) 而引起人们的普遍重视<sup>[2-5]</sup>, 但由于遭受到毁灭性的掠夺, 加上南方红豆杉种子本身具有深休眠特性、自然繁殖力低, 导致现存资源很少, 已处于濒危状态。目前, 国内外尚无大量人工繁殖和栽培南方红豆杉的研究报道, 对其种子适宜萌发条件缺乏研究。对生活周期中关键阶段的种子萌发行为的认识, 是南方红豆杉种子生物学特性研究中的重要内容。基于种子萌发率低, 很可能是含有某种抑制性的物质, 有关休眠性种子浸提液对植物的抑制作用, 对其他植物有过报道<sup>[6-7]</sup>, 而目前对南方红豆杉种子研究仅局限在紫杉醇、催芽、遗传多样性以及组织培养<sup>[8-12]</sup>等方面, 因此有必要对南方红豆杉种子浸提液的抑制作用进行研究, 探讨其抑制机理, 为进一步研究南方红豆杉休眠及保护、开发和利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

南方红豆杉种子采集于江西省九江市修水县黄港镇垅港村, 树龄为 20~40 年, 千粒重 65.048 g, 抑制试验所用的白菜籽为市售的早熟 5 号白菜籽, 纯度 96%, 净度 98%, 发芽率 85% 以上, 含水量约 7%。

石油醚、甲醇、乙醚和乙酸乙酯均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

美国安捷伦 6890N/5973N 气相色谱 - 质谱 (GC - MS) 联用仪, 旋转蒸发仪 RE - 3000, PQX 多段人工气候箱。

### 1.3 方法

1.3.1 样品的提取及分离 将南方红豆杉种子种皮和胚乳 (含胚) 分开, 各称取 1 200 g, 分别粉碎 (过 2 mm 筛) 置于 2 个 1 000 mL 的烧杯中, 再加入足量的 (甲醇) = 80% 于 0~4 条件下密闭浸提<sup>[13]</sup>, 重复数次至浸提液色淡为止, 合并所有的浸提液。分离参考黄耀阁等<sup>[14]</sup>的方法, 用石油醚、乙醚和乙酸乙酯萃取分离得相应有机溶剂相, 再将各有机相置于旋转蒸发仪 RE - 3000 上进行浓缩蒸发, 最后将各有机相定容为 200 mL, 置于 5℃ 冰箱中保存备用。

1.3.2 南方红豆杉种皮和胚乳不同萃取液活性的生物测定 取各相 3 mL 于直径 9 cm 带滤纸的培养皿中, 待有机溶剂挥干后加入 3 mL 蒸馏水, 以同体积蒸馏水作为对照, 对白菜籽进行抑制物活性鉴定。每个处理 3 个重复, 每个重复 100 粒白菜籽, 在 25℃ 恒温光照培养箱内 (昼夜各 12 h) 培养, 48 h 后统计白菜籽的发芽率 (以露出子叶为发芽的标准), 72 h 后将苗拔出测量胚根长。

1.3.3 南方红豆杉种皮和胚乳各分离物的鉴定 分别取定容后各有机相的浓缩液 100 mL 在旋转蒸发仪上减压浓缩蒸干, 再用相应的有机溶剂溶解定容至 3 mL, 即得各相提取物的浓缩样品并对其进行 GC - MS 分析。气相色谱条件 (参照韩宝瑞<sup>[15]</sup>的方法): NNOW ax 石英毛细管柱 30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25 mm; 柱温 50~190℃; 程序升温: 5℃/min; 载气为氦气, 气化室温度为 280℃。质谱条件: 离子源 (EI); 源温: 200℃; 电离电压: 70 eV; 收集电流: 300  $\mu\text{A}$ ; 发射电流: 1 mA; 仪器分离率: 600; 质量范围: 10~500。最后由计算机控制的库存信号检查各个成分的质谱图并与标准谱图进行核对。

1.3.4 发芽抑制物质的有效抑制中浓度 ( $IC_{50}$ ) 的测定 根据 GC-MS 分析结果选出峰面积和相似度均较大的几种有机化合物对应的标准品进行抑制活性测定, 对各标准品分别配制成 1, 10, 100, 1 000 和 10 000  $\mu\text{L}/\text{L}$  的浓度, 以蒸馏水为对照进行抑制活性测定, 并通过以下公式计算出各种发芽抑制物的抑制率。

$$I = (C - T) / C \times 100\% \quad (1)$$

(1) 式中:  $I$  为抑制率 (%);  $C$  为对照组平均白菜胚根长度 (mm);  $T$  为处理组平均白菜胚根长度 (mm)。再以各抑制物浓度的对数值为  $X$ , 以对白菜胚根生长的抑制率  $I$  为  $Y$ , 应用 SPSS13.0 软件拟合回归方程, 并根据方程求出  $\text{Log}IC_{50}$ , 经反对数求出抑制中浓度  $IC_{50}$ 。 $IC_{50}$  即为抑制率达到 50% 时抑制物质的浓度。

## 2 结果与分析

### 2.1 南方红豆杉种子甲醇浸提液中不同溶剂相对白菜籽发芽及生长抑制的影响

由表 1 可知, 对于南方红豆杉胚乳各相来说, 与对照处理白菜籽 90% 的发芽率相比, 用石油醚、乙醚和乙酸乙酯相溶液处理的白菜籽发芽率分别降低了 16、63 和 66 个百分点; 用种皮石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜籽发芽率分别降低 59、47 和 84 个百分点, 胚乳和种皮各相对白菜籽发芽率的抑制作用大小依次为乙醚相、乙酸乙酯相、石油醚相。若以对照处理的白菜苗高计为 100%, 胚乳石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜苗高分别为对照的 38.41%、37.97% 和 35.72%; 种皮石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜苗高分别为对照的 37.18%、38.87% 和 38.07%。若以对照处理的白菜根长计为 100%, 胚乳石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜根长分别为对照的 53.91%、11.17% 和 17.69%, 胚乳各相抑制作用由强到弱依次为乙醚、乙酸乙酯和石油醚相; 种皮石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜根长分别为对照的 11.84%、19.42% 和 11.51%。

表 1 南方红豆杉种皮和胚乳中抑制物对白菜发芽及生长的影响

Tab 1 The effects of inhibitors in seed coat and endosperm from *T. chinensis* var. *mairei* seed on the germination and growth of *B. campestris*

溶剂 Solvents	发芽率 /% Germinating capacity		苗高 /cm Seedlings height				根长 /cm Root length			
	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm		
石油醚相 Petroleum ether extract	31	74	0.32	0.33	0.17	0.79				
乙醚相 Ether extract	6	27	0.33	0.33	0.28	0.16				
乙酸乙酯相 Ethyl acetate extract	23	24	0.33	0.31	0.17	0.26				
对照 CK	90	90	0.86	0.86	1.46	1.46				

### 2.2 南方红豆杉种子甲醇浸提液不同萃取成分的种类和相对含量

经 GC-MS 分析鉴定结果显示, 南方红豆杉种皮和胚乳中存在多种有机化合物, 这些化合物主要以有机酸类、苯类、酯类等为主。检索 NIST 谱图库, 共鉴定出 14 种化合物, 其中种皮和胚乳中分别有 11 种有机化合物, 其相对含量见表 2。通过对南方红豆杉种子甲醇浸提液的不同溶剂萃取成分进行分析, 可为更全面了解南方红豆杉的化学成分提供依据。

根据质谱检测结果, 在南方红豆杉种皮和胚乳不同溶剂提取液的离子流程图中, 种皮石油醚相中 50.04 min 分离物、乙醚相中 50.17 min 分离物、乙酸乙酯相中 32.12 min 分离物、甲醇相中 49.95 min 分离物, 和胚乳石油醚相中 50.00 min 分离物、乙醚相中 50.01 min 分离物、乙酸乙酯相中 39.08 min 分离物均为同一种有机化合物, 与十六烷酸 ( $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ ) 标准谱图核对, 其相似度为 98%; 种皮乙醚相中

54. 68 min 分离物、乙酸乙酯相中 52. 01 min 分离物和胚乳石油醚相中 54. 59 min 分离物也为同种化合物,与十八烷酸 (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>) 标准谱图核对,其相似度为 97%。胚乳中乙醚相中 29. 70 min 分离物和乙酸乙酯相中 29. 56 min 分离物为同种物质,与苯甲酸 (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) 标准谱图核对,其相似度为 95%。种皮中乙醚相的总离子流程图中,56. 30 min 分离物的相对含量为 3. 48%,与乙酸 (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) 标准谱图核对,其相似度为 96%。种皮乙醚相中 56. 02 min 分离物、甲醇相中 39. 18 min 分离物、胚乳乙醚相中 53. 56 min 分离物和乙酸乙酯相中 39. 08 min 分离物也是同种有机化合物,与油酸 (C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>) 标准谱图核对,其相似度为 94%。

表 2 南方红豆杉种子甲醇浸提液不同萃取成分及相对含量

Tab 2 Relative contents and different extraction composition of methanol soaked from seed of *Taxus chinensis* var. *mairei*

序号 No	成分 Contents	分子式 Formula	相对含量 /% Relative contents						
			石油醚萃取 Petroleum ether extract		乙酸乙酯萃取 Ethyl acetate extract		乙醚萃取 Ether extract		
			胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	
1	(E) - 9 - 十八碳烯酸 (E) - 9 - octadecenoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	15. 32		3. 19				
2	(Z) - 6 - 十八碳烯酸 (Z) - 6 - octadecenoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>		32. 53					
3	(Z, Z) - 9, 12 - 十八 - 二烯酸 (Z, Z) - 9, 12 - octadecadienoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>						0. 49	
4	(Z, Z) - 9, 12 - 十八烯酸 (Z, Z) - 9, 12 - oleic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	9. 46	2. 47	45. 7	3. 12			
5	18 - 十九碳烯酸 18 - jecoleic acid	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>							0. 74
6	3 - 苯基 - 2 - 丙烯酸 3 - phenyl - 2 - acrylic acid	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>			10. 48	6. 6	2. 21		0. 97
7	9 - 十八碳烯酸 9 - octadecenoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	6. 4	4. 36		44. 15			45. 45
8	苯甲酸 Phenylformic acid	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>			1. 3		1. 62		
9	二十烷酸 Eicosanoic acid	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>			10. 31				2. 1
10	芥酸 Erucic acid	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	6. 38		7. 211		72. 25		11. 12
11	十八烷酸 Stearic acid	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	4. 59			8. 06			5. 16
12	十六烷酸 Hexadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	3. 58	7. 14	4. 55	35. 85	0. 75		15. 05
13	乙酸 Acetic acid	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>							6. 46
14	油酸 Oleic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>			8. 13		12. 42		10. 11

2.3 南方红豆杉种子甲醇浸提液不同萃取成分的生物活性

用单因子方差结合多重比较分析各处理白菜胚根生长的差异 (表 3)。不同浓度的十六酸、十八酸和苯甲酸等抑制物对白菜胚根生长抑制作用的差异均达到极显著水平,抑制作用随浓度增大而增强。这 3 种标准品在浓度为 10 000 μL/L 时抑制活性极强,白菜种子均不萌发。处理 1 000 μL/L 的十八酸抑制强度低于苯甲酸,而在 100 μL/L 则相反。棕榈酸对白菜根生长有双重作用,即在较高浓度时 (100 μL/L) 对白菜根生长有抑制作用,且与对照组间差异达显著或极显著水平;在低浓度时 (10 μL/L) 对其生长有一定的促进作用 (以抑制率的负值表示),但无明显差异性。从表 3 还可以看出,不同浓度的

乙酸对白菜生长没有显著影响。用一系列浓度梯度的油酸处理的白菜,对其根生长均有一定的促进作用,但与对照组间差异不显著。

表 3 不同浓度的发芽抑制物对白菜胚根生长抑制作用差异显著性分析

Tab 3 Analysis of inhibitory activity among different germination inhibitors concentrations to radicle length of *B. campestris*

有机物 Organic matter	处理 / ( $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Treatment	平均数 / mm Mean ( )	标准差 STD	抑制率 / % Inhibitors ratio	LSR		$F_{0.01}$
					0.05	0.01	
棕榈酸 Hexadecanoic acid	CK	13.84	0.64	0.00	a	A	182.058
	1	14.36	0.68	-3.69	a	A	
	10	14.15	1.07	-2.15	a	A	
	100	12.01	0.73	13.24	b	B	
	1 000	11.86	0.69	14.35	b	B	
	10 000	0.00	0.00	100.00	c	C	
硬脂酸 Stearic acid	CK	16.71	2.18	0.00	a	A	104.583
	1	14.98	0.34	10.35	ab	AB	
	10	14.32	0.80	12.45	ab	B	
	100	14.63	0.79	14.31	ab	B	
	1 000	13.05	0.59	21.91	b	B	
	10 000	0.00	0.00	100.00	c	C	
苯甲酸 Phenylformic acid	CK	22.86	2.01	0.00	a	A	126.486
	1	21.53	0.73	5.77	a	AB	
	10	19.31	1.85	11.61	a	B	
	100	21.09	1.94	12.33	a	AB	
	1 000	5.09	1.41	74.17	b	C	
	10 000	0.00	0.00	100.00	c	D	
乙酸 Acetic acid	CK	13.84	0.64	0.00	a	A	3.658
	1	13.32	1.27	3.76	ab	AB	
	10	13.01	1.17	6.06	ab	AB	
	100	11.68	1.10	15.65	ab	ABC	
	1 000	11.33	0.89	18.20	ab	BC	
	10 000	10.61	1.61	23.36	b	C	
油酸 Oleic acid	CK	16.71	2.18	0.00	a	A	2.786
	1	21.38	1.85	-27.95	a	B	
	10	21.21	3.75	-26.94	a	B	
	100	18.72	0.59	-12.03	a	AB	
	1 000	17.26	1.45	-3.29	a	AB	
	10 000	16.78	2.31	-0.41	a	A	

$P < 0.01$ , ( $F_{0.01} = 5.06$ ); 多重比较采用 Duncan's 新复极差法, 纵向比较字母相同者为差异不显著, 字母不同为差异显著或极显著。

$P < 0.01$ , ( $F_{0.01} = 5.06$ ); Duncan's new multiple range method was used as multiple comparisons, the same letters vertically indicated the difference was not significant, and the difference were significantly or very significantly when the letters were different

#### 2.4 几种有机化合物抑制中浓度的测定

根据质谱检测结果, 由于南方红豆杉种皮和胚乳甲醇浸提液不同萃取成分的离子流程图较多, 选相似度最大的十六烷酸质谱图为代表 (图 1)。用不同稀释倍数的十六烷酸标准样品进行抑制活性测定, 并通过拟合的回归方程换算各抑制剂的中等抑制浓度 (图 2)。同理, 通过拟合的回归方程也可换算出十八烷酸、苯甲酸、乙酸的中等抑制浓度, 并且拟合程度较好 (表 4)。

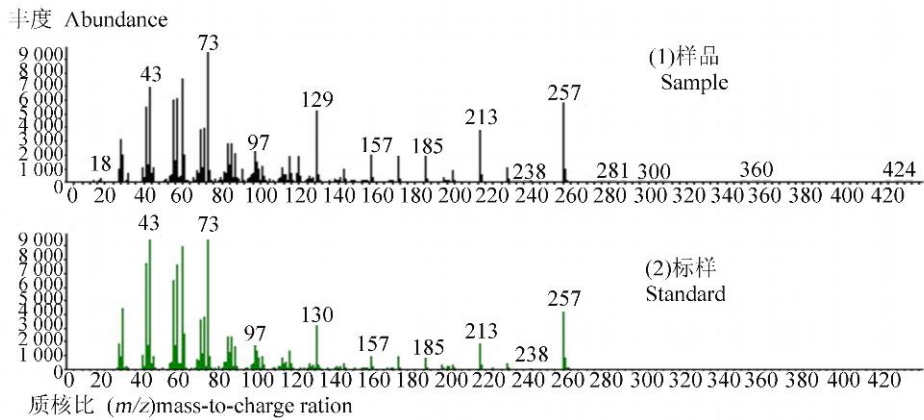


图 1 分离物与十六烷酸的质谱图比较

Fig 1 MS comparison between inhibitor and n - hexadecanoic acid

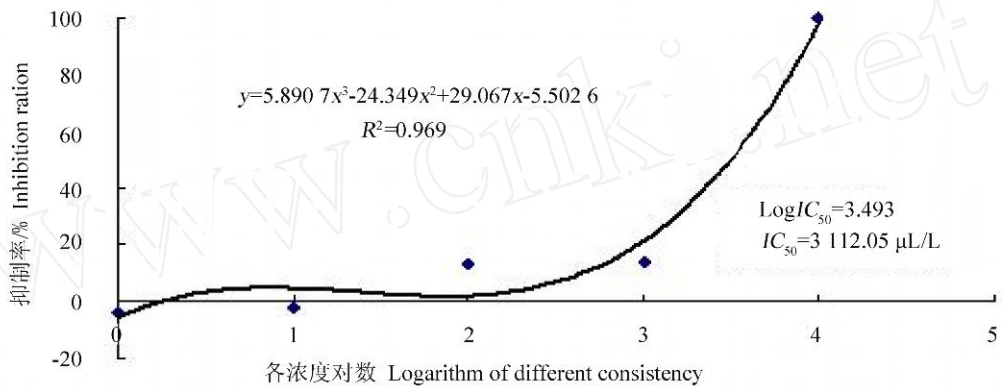


图 2 棕榈酸对白菜胚根生长的中等抑制浓度

Fig 2  $IC_{50}$  of n - hexadecanoic acid against the radicle growth of Chinese cabbage

表 4 各有机物对白菜胚根生长的中等抑制浓度  $IC_{50}$ 、相关系数和模拟方程

Tab 4  $IC_{50}$ , relativity and simulation equation of different solvent against the radicle growth of cabbage

有机物 Organic matter	抑制中浓度 $IC_{50} / (\mu L \cdot L^{-1})$ Medium inhibitors consistency	相关系数 ( $R^2$ ) Correlation	模拟方程 Simulation equation
十六烷酸 Hexadecanoic acid	3 112 053	0 969	$y = 5.8907x^3 - 24.349x^2 + 29.067x - 5.5026$
十八烷酸 Stearic acid	2 890 754	0 99	$y = 5.89x^3 - 24.10x^2 + 24.50x + 9.51$
苯甲酸 Phenylformic acid	429.632	0 949	$y = -2.5731x^3 + 22.66x^2 - 25.915x + 8.1044$
乙酸 Acetic acid	4 272 776	0 97	$y = -0.3891x^3 + 2.2409x^2 + 2.1639x + 3.4138$

### 3 结论与讨论

学者张志权等人就南方红豆杉种子发芽抑制进行过研究,认为其种子水提液对菜苔种子具有显著的抑制作用<sup>[16]</sup>,初步认为其种子含有抑制物。本研究用蒸馏水处理的白菜籽发芽率为 90%,但通过对南方红豆杉胚乳和种皮甲醇浸提液不同萃取液处理白菜籽的发芽及生长进行分析,得出胚乳石油醚、乙醚和乙酸乙酯相溶液处理的白菜籽发芽率分别降低 16、63 和 66 个百分点,用种皮石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜籽发芽率分别降低了 59、47 和 84 个百分点,并且胚乳和种皮各相对白菜籽发芽率抑

制作用相似,大小依次为乙醚相、乙酸乙酯相、石油醚相。若以对照处理的白菜苗高计为 100%,胚乳石油醚、乙醚和乙酸乙酯相处理的白菜苗高分别为对照的 38.41%、37.97%和 35.72%;种皮各相处理白菜苗高分别为对照的 37.18%、38.87%和 38.07%。若以对照处理的白菜根长计为 100%,胚乳石油醚、乙醚和乙酸乙酯相浓度处理的白菜根长分别为对照的 53.91%、11.17%和 17.69%;种皮各相处理白菜根长分别为对照的 11.84%、19.42%和 11.51%,说明南方红豆杉胚乳和种皮很有可能存在发芽抑制物质。

自 1859 年 Hoffmann 首次从欧洲花楸果实中分离出一种强抑制物质——花楸酸<sup>[17]</sup>以来,发芽抑制物质的研究已成为种子休眠机理研究的重点。尽管有研究<sup>[18]</sup>认为种子含有某种或某些抑制物,但尚未对其进行详细的报道。首次从南方红豆杉种皮和胚乳中鉴定出多种有机化合物,选择峰面积较大、相似度 85% 以上的物质进行抑制活性测定,得出不同浓度的十八烷酸和苯甲酸等对白菜籽根生长的抑制作用随着抑制物浓度增大而逐渐增强,并且差异均达到极显著水平。这 3 种标准品的抑制作用浓度为 10 000  $\mu\text{L}/\text{L}$  时抑制活性极强,白菜种子均不萌发。处理 1 000  $\mu\text{L}/\text{L}$  的十八烷酸抑制强度低于苯甲酸,而在 100  $\mu\text{L}/\text{L}$  则相反。棕榈酸对白菜根生长有双重作用,即在较高浓度时(100  $\mu\text{L}/\text{L}$ )对白菜根生长有抑制作用,且与对照组间差异达显著或极显著水平;在低浓度时(10  $\mu\text{L}/\text{L}$ )对其生长有一定的促进作用,但无明显差异性。而不同浓度的油酸对白菜根生长均有一定的促进作用。它们的抑制中浓度( $IC_{50}$ )分别为:十六烷酸(3 112.053  $\mu\text{L}/\text{L}$ )、十八烷酸(2 890.754  $\mu\text{L}/\text{L}$ )、苯甲酸(429.632  $\mu\text{L}/\text{L}$ )、乙酸(4 272.776  $\mu\text{L}/\text{L}$ )。因此,南方红豆杉种皮和胚乳中存在的发芽抑制物质是其种子休眠的主要原因之一。但是这些抑制物质的抑制方式,即具体在种子萌发过程中的哪个阶段发挥其抑制作用还不清楚,有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 曹基武,陈湘运. 南方红豆杉营林技术的研究与应用 [J]. 林业科技开发, 1999, 13(5): 12 - 13.
- [2] Yuan Y J, Li C, Hu Z D, et al. A double oxidative burst for taxol production in suspension cultures of *Taxus chinensis* var *maiirei* induced by oligosaccharide from *Fusarium oxysporum* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 30(6): 774 - 778.
- [3] Yuan Y J, Li C, Wu J C, et al. A model for signal transduction in suspension cultures of *Taxus chinensis* var *maiirei* induced by an oligosaccharide from *Fusarium oxysporum* [J]. Biotechnology Letters, 2002, 24(5): 407 - 412.
- [4] Li C, Yuan Y J, Wu J C, et al. A structured kinetic model for suspension of *Taxus chinensis* var *maiirei* induced by an oligosaccharide from *Fusarium oxysporum* [J]. Biotechnology Letters, 2003, 25(16): 1335 - 1343.
- [5] Yuan Y J, Li C, Hu Z D, et al. Fungal elicitor-induced cell apoptosis in suspension cultures of *Taxus chinensis* var *maiirei* for Taxol production [J]. Process Biochemistry, 2002, 38(2): 193 - 198.
- [6] 李彩琴,陈垣,郭凤霞. 宽叶羌活种子浸提液对白菜种子萌发及幼苗生长的抑制活性 [J]. 甘肃农业大学学报, 2008, 43(5): 84 - 86.
- [7] 李华英,张勇哲,罗广军. 桃叶卫矛假种皮浸提液对种子发芽的影响 [J]. 延边大学农学学报, 2008, 30(1): 58 - 62.
- [8] 柯春婷,全川,王玉震,等. 不同地理种源南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量及影响因子 [J]. 生态学杂志, 2009, 28(2): 231 - 236.
- [9] 杨逢建,周瑞,庞海河,等. 不同遮荫强度下南方红豆杉枝叶紫杉醇产量的季节变化 [J]. 植物研究, 2009, 29(4): 471 - 474.
- [10] 汪昌伟,全川,李文建,等. 遮光对南方红豆杉生长及紫杉醇含量的影响 [J]. 生态学杂志, 2008, 27(8): 1269 - 1273.
- [11] 茹文明,秦永燕,张桂萍,等. 濒危植物南方红豆杉遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 植物研究, 2008, 28(6): 698 - 704.
- [12] 叶添谋,王羽梅. 南方红豆杉组织培养育苗试验 [J]. 福建林业科技, 2008, 35(3): 102 - 105.
- [13] Hisashi K N. Isolation and identification of an allelopathic substance in *Pisum sativum* [J]. Phychemistry, 2003, 62(7): 1141 - 1144.
- [14] 黄耀阁,崔树玉,鲁歧,等. 西洋参种子抑制物质的初步研究 [J]. 吉林农业大学学报, 1994, 16(2): 9 - 14.
- [15] 韩宝瑞,黄耀阁,李向高. 西洋参果肉中的六种发芽抑制物质 [J]. 特产研究, 2000(1): 13 - 17.
- [16] 张志权,廖文波,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.
- [17] Evenari M. Germination Inhibitors [J]. The Botanical Review, 1949, 15(3): 153 - 194.
- [18] 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.