

# 滇重楼种子内源抑制物质的活性研究

赵 燕, 魏玉兰, 毛美琴, 马明东\*

(四川农业大学 风景园林学院, 成都 611130)

**摘 要:**以滇重楼种皮和胚乳为材料,用甲醇浸提得到种皮浸提液和胚乳浸提液,配制成浓度梯度为 0.02、0.04、0.06、0.08 g/mL 的处理液,以蒸馏水为对照,研究不同浓度种皮和胚乳浸提液对受体植物白菜(油脂类)、小麦(淀粉类)、绿豆(蛋白类)种子发芽率、幼苗苗高和根长、抗氧化酶活性的影响,探讨滇重楼种子内源抑制物质的特性,以揭示滇重楼种子休眠的生理机制。结果表明:(1)滇重楼种皮和胚乳中均含有抑制种子萌发与幼苗生长的物质,且抑制作用大小表现为胚乳大于种皮。(2)3 种受体植物幼苗对滇重楼种皮、胚乳甲醇浸提液的敏感性大小为白菜(油脂类)显著高于绿豆(蛋白类)和小麦(淀粉类)。(3)滇重楼种皮、胚乳甲醇浸提液对种子萌发及幼苗生长各项指标的抑制作用强度依次为:发芽率>幼苗根长>幼苗苗高>鲜重。(4)滇重楼种皮、胚乳中的抑制物质均能够使 3 种受体植物幼苗产生生理响应,启动抗氧化酶体系,其中:随着滇重楼种皮甲醇浸提液浓度的升高,受体幼苗 SOD 与 POD 活性先升后降,CAT 活性持续下降;胚乳甲醇浸提液处理后,受体幼苗 SOD 和 POD 活性较对照均显著增强,而 CAT 活性显著下降。研究认为,滇重楼种皮及胚乳甲醇浸提液均能够抑制受体植物种子萌发及幼苗生长,影响幼苗抗氧化酶活性,但滇重楼种皮与胚乳中所含抑制物在活性上存在差异。

**关键词:**滇重楼;甲醇浸提液;受体植物;种子萌发;幼苗生长

**中图分类号:**Q945.35; Q945.78 **文献标志码:**A

## Activity of Endogenous Inhibitor Substances in Seeds of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*

ZHAO Yan, WEI Yulan, MAO Meiqin, MA Mingdong\*

(School of Landscape Architecture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

**Abstract:**To study the reasons for dormancy and characteristics of endogenous inhibitory substances of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, seed germination, seedlings growth and antioxidant enzymes of three kinds of crops in different concentrations of we studied the methanol extract from *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed coat and endosperm in order to investigate the relationship between the restraining substraces in seed coat and endosperm in dormancy of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* Hope to provide scientific reference for breaking *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed dormancy. The results showed that: (1) there are endogenous inhibitory both in seed coat and endosperm, and the inhibitory action from endosperm is stronger than that of seed coat. (2) Three receptor plant seedlings show different sensibility to the endogenous inhibitory of seed coat and endosperm, *Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* (Oil) seeds are significantly more sensitive than *Triticum aestivum* (Starch) seeds and *Vigna radiata* (Protein) seeds. (3) Inhibition by *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed coat and endosperm methanol extraction, the strength of

收稿日期: 2017-04-28; 修改稿收到日期: 2017-08-14

基金项目: 四川省教育厅攻关项目(2006A016)

作者简介: 赵 燕(1993-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事园林植物应用生理与次生代谢研究。E-mail: 544397314@qq.com

\* 通信作者: 马明东, 教授, 博士生导师, 主要从事园林植物培育与利用研究。E-mail: 1670364138@qq.com

growth indexes about seed germination and seedling are rating as: germination rate > seedling root length > seedling height > fresh weight. (4) The inhibitory substances in the seed coat and endosperm cause the physiological response of the three receptor plant seedlings, and start the antioxidant enzyme system. With the increase of seed coat methanol extract concentration, the activities of superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD) increased first and then decreased, while catalase(CAT) activity continued to decline. After treatment with methanol extract from endosperm, the activities of SOD and POD were significantly increased compared with control group, and CAT activity decreased significantly. The study found that there are chemical components both in seed coat and endosperm of *P. polyphylla* var. *yunnanensis*, These chemicals inhibited the seed germination and seedling growth of recipient plants, affected the activities of antioxidant enzymes in seedlings. However, there were differences in the activity of the inhibitors contained in seed coat and endosperm.

**Key words:** *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*; methanol extract; receptor plant; seed germination; seedling growth

滇重楼 [*Paris polyphylla* var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz], 是延龄草科 (Trilliaceae) 重楼属 (*Paris*) 亚高山多年生草本植物, 主要分布在云南及贵州等西南各省, 是一种珍贵的药用植物, 具有极高的药用价值<sup>[1]</sup>。其药材中含有甾体皂苷、黄酮等多种有效成分, 具有抗菌、止血、抗肿瘤等多种药理作用, 是“云南白药”、“宫血宁”、“红药”、“热毒清”等中药制剂的主要配方原料<sup>[2-4]</sup>。

滇重楼的繁育方法主要为有性繁殖和以根茎为主的无性繁殖, 相对于无性繁殖, 种子繁殖是滇重楼人工育苗工作中最可靠、繁殖效率最高的繁殖方式。然而, 滇重楼种子具有形态-生理休眠特性, 在育苗过程中, 滇重楼种子经沙藏处理至长出第一片真叶一般需要 18 个月, 同时有大量种子在漫长的休眠期间丧失了生命力, 大大地限制了滇重楼的人工种植, 致使滇重楼的市场供应不足, 资源急剧匮乏<sup>[5]</sup>。种子休眠期长、发芽率低导致滇重楼资源再生困难, 对于破除滇重楼种子休眠的研究迫在眉睫。

前人通过对种子内源抑制物质活性研究, 为打破种子休眠技术和休眠机理研究提供了科学依据。宋会兴等<sup>[6]</sup>通过对四川牡丹种子内源抑制物质活性的研究, 发现内源抑制物质是导致四川牡丹休眠的重要原因; 覃嘉佳等<sup>[7]</sup>发现内源抑制物的存在是引起野鸦椿属种子的休眠原因之一。大量研究表明, 植物种子中存在某些内源抑制物质, 阻碍了植物生理活动的某些代谢环节, 影响种子发芽过程的进行, 造成种子休眠, 甲醇浸提液在研究种子休眠的内源抑制物上, 已有广泛应用<sup>[8-10]</sup>。因此, 本实验通过对滇重楼种皮及胚乳甲醇浸提液的生物测定, 研究滇重楼种子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滇重楼种子休眠的方法提供实

验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

供体植物滇重楼采于云南省大理市弥渡县弥渡镇上庄中药材种植基地。生物活性的测定材料采用市售白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*)、小麦 (*Triticum aestivum*) 和绿豆 (*Vigna radiata*) 的种子。实验在成都市温江区四川农业大学风景园林重点实验室进行。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 滇重楼种皮、胚乳中抑制物质的提取** 参照戴萍<sup>[11]</sup>和程汉亭等<sup>[12]</sup>, 选取饱满的滇重楼种子, 分离种皮、胚乳(带胚), 分别用研钵磨碎后各称取 10 g 置于三角瓶内, 加入足量 80% 甲醇溶液, 在室温下密闭浸提, 间隔一定时间搅拌 1 次, 使其浸提充分, 每隔 24 h 倒出上清液, 再重新加入足量 80% 甲醇溶液继续浸提, 重复 3 次, 合并所有浸提液, 定容至 100 mL, 得到的甲醇浸提原液浓度为 0.1 g/mL。试验时, 分别稀释浸提原液至 0.02、0.04、0.06、0.08 g/mL 等 4 个浓度, 置于 4 ℃ 冰箱密闭保存备用。

**1.2.2 滇重楼种子内源抑制物活性测定** 在 35 ℃ 水浴条件下, 将白菜、小麦、绿豆种子用质量分数 0.5% 高锰酸钾溶液浸泡消毒 30 min, 蒸馏水洗净残留高锰酸钾溶液, 选出籽粒饱满的种子风干待用。

参考吴啸业<sup>[13]</sup>的生物活性测定方法, 吸取不同浓度甲醇浸提液各 7 mL 分别加入铺有 2 层滤纸的直径 9 cm 培养皿内, 相同体积的蒸馏水作为对照。将消毒后的白菜、小麦、绿豆种子分别置于上述培养皿中进行发芽实验, 每个处理设 3 个重复, 每个重复

30 粒种子,在 20 ℃ 恒温培养箱内培养。

培养 48 h 后统计白菜、小麦、绿豆种子的发芽率(以露出子叶为发芽的标准),5 d 后将苗拔出测其苗高、根长及鲜重。在培养 24、48、72 h 时分别取 0.2 g 白菜、小麦、绿豆幼苗,采用氮蓝四唑法、愈创木酚法及紫外吸收法分别测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性<sup>[14]</sup>。

### 1.3 数据处理与分析

各项实验均重复 3 次,所得数据用 Excel 2013 软件求得平均值和标准差,采用 SPSS 软件对不同处理进行单因素方差分析,并用 Duncan 检验法进行多重比较。显著水平设定为  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 滇重楼种子甲醇浸提液对受体种子萌发率的影响

表 1 显示,随着滇重楼种皮浸提液浓度的增加,受体植物绿豆和小麦种子发芽率均呈逐渐降低的趋势,而白菜种子萌发始终没有受到明显抑制。其中,小麦种子发芽率在种皮浸提液浓度为 0.04 g/mL 时就受到显著抑制( $P<0.05$ ),并且抑制强度随着浓度升高而增大,其在 0.08 g/mL 时的发芽率已降低至 36.67%;绿豆种子发芽率在种皮浸提液浓度

达到 0.06 g/mL 时才受到显著抑制;白菜种子发芽率在各浓度种皮浸提液处理下均与对照无显著差异( $P>0.05$ )。

同时,从表 1 还可知,不同浓度胚乳甲醇浸提液处理都显著抑制了 3 种受体植物种子的萌发,且抑制作用强度与浸提液浓度均呈正比。其中,白菜和小麦种子发芽率在胚乳浸提液浓度为 0.02 g/mL 时均比对照组显著降低,并且抑制效果随着浸提液浓度的增加而更加明显;当胚乳浸提液浓度达到 0.08 g/mL 时,白菜、小麦、绿豆种子的发芽率平均值较对照(CK)分别显著降低了 94%、67% 和 71%。可以看出,滇重楼胚乳甲醇浸提液对受体植物萌发的抑制效应强于种皮浸提液,胚乳甲醇浸提液对白菜种子萌发抑制作用最强,而种皮浸提液对小麦种子萌发抑制作用最强。

### 2.2 滇重楼种子甲醇浸提液对受体幼苗生长的影响

**2.2.1 种皮浸提液** 滇重楼种皮浸提液对 3 种受体植物幼苗苗高、根长及鲜重的影响程度各不相同(表 2)。其中,白菜幼苗苗高、根长及鲜重在 0.02 g/mL 浓度的浸提液处理下就均比对照显著降低,并随浸提液浓度的提高,其生长受到的抑制作用越大,且各处理间差异显著。绿豆、小麦幼苗的苗高、根长及鲜重随浸提液浓度的升高均表现出先增后减

表 1 滇重楼种皮甲醇浸提液对受体植物种子发芽率的影响

Table 1 Effects of methanol extract of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed coat and endosperm on germination of receptor plant

供体 Donor	浸提液浓度 Extract concentration /(g/mL)	发芽率 Germination rate/%		
		白菜 <i>Brassica campestris</i>	小麦 <i>Triticum aestivum</i>	绿豆 <i>Vigna radiate</i>
种皮 Seed coat	0(CK)	97.78±2.22ab	68.89±4.01a	64.44±2.22a
	0.02	94.44±1.11b	58.89±8.68ab	61.11±2.94a
	0.04	97.78±1.11ab	45.56±5.88bc	52.22±2.22ab
	0.06	100.00±0a	44.44±1.11bc	31.11±15.67bc
	0.08	93.33±1.93b	36.67±3.85c	21.11±4.84c
胚乳 Endosperm	0(CK)	97.78±2.22a	64.44±2.22a	68.89±4.01a
	0.02	65.56±10.60b	51.11±4.01b	47.78±4.84ab
	0.04	51.11±2.94b	47.78±4.84b	41.11±7.29ab
	0.06	8.89±1.11c	41.11±6.76bc	34.44±2.94b
	0.08	5.56±4.01c	21.11±6.76c	20.00±3.85c

注:数据为均值±标准差;同列不同字母表示处理浓度间在 0.05 水平上差异显著;下同

Note: The data are mean± standard deviation; The different letters in the same column indicate significant difference among concentrations at 0.05 level. The same as below

表 2 滇重楼种皮和胚乳甲醇浸提液对受体植物幼苗苗高、根长及鲜重的影响

Table 2 Effects of methanol extract of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed coat and endosperm on seedling root length, seedling height and fresh weight of receptor plant

受体植物 Receptor plant	浸提液浓度 Concentration /(g/mL)	苗高 Seeding length/cm		根长 Root length/cm		鲜重 Fresh weight/g	
		种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm	种皮 Seed coat	胚乳 Endosperm
白菜 <i>Brassica campestris</i>	0(CK)	1.44±0.02a	1.44±0.02a	3.39±0.03a	3.39±0.03a	0.07±0.00a	0.07±0.00a
	0.02	1.24±0.00b	0.94±0.05b	2.02±0.06b	0.96±0.04b	0.05±0.00b	0.03±0.00b
	0.04	1.03±0.04c	0.83±0.06b	1.58±0.05c	0.45±0.03c	0.05±0.00b	0.02±0.00b
	0.06	0.90±0.10c	0.56±0.05c	1.27±0.28cd	0.34±0.04cd	0.04±0.00bc	0.03±0.00b
	0.08	0.60±0.05d	0.44±0.08c	1.01±0.10d	0.31±0.08d	0.03±0.01cd	0.02±0.01b
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	0(CK)	1.26±0.00c	1.26±0.00c	3.32±0.05cd	3.32±0.05a	0.03±0.00b	0.03±0.00c
	0.02	2.14±0.16ab	2.20±0.05ab	3.58±0.13ab	2.96±0.16a	0.06±0.01ab	0.09±0.01b
	0.04	2.42±0.13a	2.44±0.02a	4.22±0.14a	2.30±0.22b	0.16±0.06a	0.10±0.00b
	0.06	2.35±0.09a	2.27±0.07ab	4.02±0.43ab	2.09±0.02b	0.10±0.01ab	0.13±0.00a
	0.08	1.71±0.22bc	2.12±0.15b	2.76±0.07d	1.89±0.13b	0.07±0.01ab	0.11±0.01b
绿豆 <i>Vigna radiata</i>	0(CK)	4.47±0.29ab	4.47±0.29a	2.90±0.18ab	2.90±0.18a	0.22±0.04a	0.22±0.04b
	0.02	4.53±0.62ab	5.80±0.28a	3.24±0.03ab	2.79±0.05a	0.26±0.02a	0.38±0.01a
	0.04	4.72±0.78ab	5.14±0.85a	3.62±0.20a	2.51±0.33a	0.28±0.07a	0.42±0.02a
	0.06	5.36±1.20a	2.94±0.08b	3.44±0.47a	1.90±0.08b	0.34±0.04a	0.39±0.02a
	0.08	2.49±0.13b	2.20±0.10b	2.35±0.28c	0.83±0.06c	0.33±0.01a	0.39±0.01a

的变化趋势;小麦幼苗的苗高及根长在低浓度(0.02 g/mL)浸提液处理下显著高于对照,并在 0.04 g/mL 浓度时达到最大,随后逐渐降低,说明中低浓度种皮浸提液能促进小麦幼苗生长;绿豆苗高在高浓度(0.08 g/mL)浸提液处理下显著低于对照,抑制作用明显。

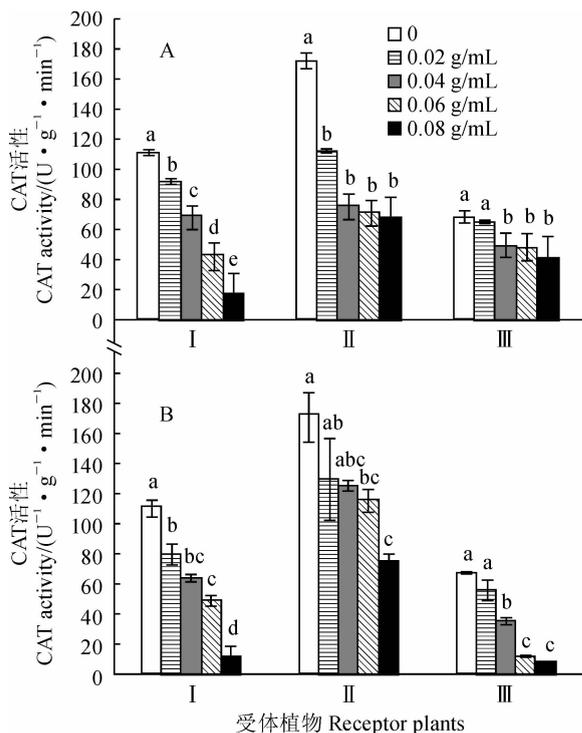
**2.2.2 胚乳浸提液** 表 2 显示,不同浓度胚乳浸提液处理对白菜幼苗苗高、根长及鲜重均表现为抑制作用,苗高、根长及鲜重在低浓度(0.02 g/mL)处理后均比对照显著降低,且浓度越高,对白菜幼苗生长的抑制作用越明显。小麦和绿豆幼苗苗高在较低浓度的种胚甲醇浸提液处理下得到明显促进,并均在 0.04 g/mL 浓度时达到最大值,之后随着浓度增大均不同程度降低,但此时小麦苗高仍显著高于对照,而此时绿豆幼苗苗高显著低于对照。小麦与绿豆幼苗的根长在各浓度胚乳浸提液处理下均受到不同程度的抑制,它们在 0.08 g/mL 浓度下分别比对照显著降低了 43.07%和 71.38%。

综上分析可知,滇重楼种皮与胚乳中均含有抑制植物种子萌发及生长的物质,不同的受体植物对浸提液敏感性不同,植物不同器官对浸提液的敏感性也存在差异,滇重楼胚乳浸提液严重抑制了白菜种子的萌发与幼苗生长,不同浓度梯度浸提液均有

显著抑制作用,而相同浓度浸提液处理却促进了小麦幼苗苗高的生长。胚乳浸提液对 3 种受体幼苗生长的抑制作用高于种皮浸提液;种皮、胚乳甲醇浸提液对受体种子幼苗根长的抑制作用大于对苗高和鲜重的抑制;种皮、胚乳甲醇浸提液对白菜种子萌发及生长的抑制作用高于小麦、绿豆种子。

### 2.3 滇重楼种子甲醇浸提液对受体幼苗 CAT、SOD、POD 活性的影响

**2.3.1 幼苗 CAT 活性** 白菜、绿豆、小麦幼苗 CAT 活性在各浓度种皮浸提液处理下均比对照不同程度降低,且大多达到显著水平(图 1, A)。随着种皮浸提液浓度的增大,白菜幼苗的 CAT 活性随之显著降低,且各处理间差异显著,表明种皮浸提液显著抑制了白菜幼苗的 CAT 活性;绿豆与小麦幼苗 CAT 随着浓度增大也呈逐渐降低的趋势,但各浓度处理间无显著差异。中等浓度(0.04 g/mL)种皮浸提液即能显著抑制白菜、绿豆和小麦幼苗的 CAT 活性。同时,与种皮浸提液处理表现相似,白菜、小麦及绿豆幼苗的 CAT 活性均随着滇重楼胚乳甲醇浸提液浓度的增加逐渐降低(图 1, B)。其中,低浓度(0.02 g/mL)胚乳浸提液处理时,白菜幼苗 CAT 活性相比对照显著降低,绿豆与小麦幼苗的 CAT 活性虽均有所下降,但受抑制程度未达到



I. 白菜; II. 绿豆; III. 小麦; 下同

图 1 滇重楼种皮(A)和胚乳(B)甲醇浸提液对受体植物幼苗 CAT 活性的影响

I. *Brassica campestris*; II. *Vigna radiata*;  
III. *Triticum aestivum*; The same as below

Fig. 1 Effects of methanol extract of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed coat (A) and endosperm (B) on activity of catalase of receptor plants

显著水平; 绿豆和小麦幼苗的 CAT 活性分别在 0.06 和 0.04 g/mL 浓度处理下比对照显著降低; 在 0.08 g/mL 浓度处理下, 白菜、绿豆及小麦幼苗 CAT 活性分别显著低于对照 89%、86% 和 56%。可见, 相同受体植物在相同浸提液浓度处理时, 胚乳浸提液对受体植物幼苗 CAT 活性的抑制强度明显高于种皮浸提液, 表明胚乳中的物质较种皮有更强的抑制作用, 但具体是因为胚乳中抑制物质含量更多还是抑制物质种类不同还需进一步实验论证。

**2.3.2 幼苗 SOD 活性** 随着滇重楼种皮浸提液处理浓度的增加, 白菜、小麦及绿豆幼苗 SOD 活性均呈先升后降的变化趋势, 它们分别在 0.02、0.04 和 0.06 g/mL 浓度下达到最大值(图 2, A)。其中, 白菜幼苗的 SOD 活性在加入 0.02 g/mL 浸提液后就比对照显著升高, 之后随着浸提液浓度的升高而逐渐下降, 当浸提液浓度达到 0.08 g/mL 时已显著低于对照; 小麦及绿豆幼苗 SOD 活性虽然随着浸提液浓度升高出现了降低的趋势, 而它们在 0.08 g/mL 浓度下仍高于对照组, 但绿豆幼苗 SOD 活性在各浓

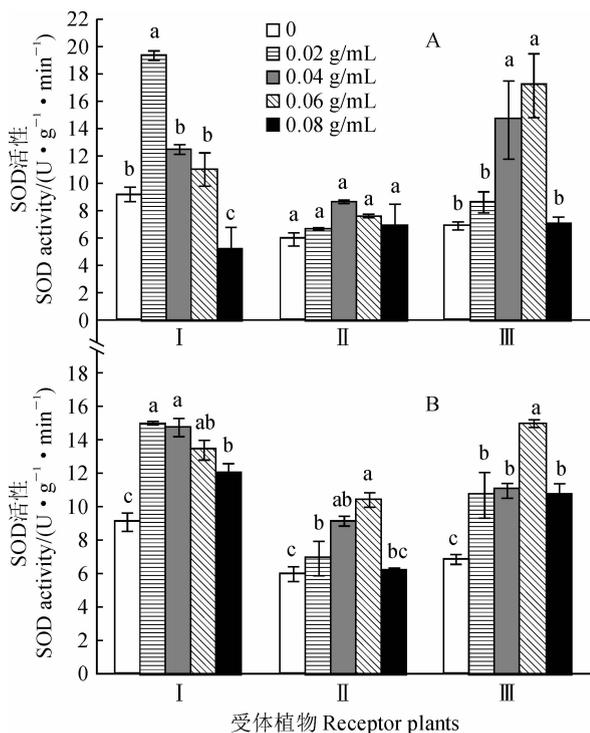


图 2 滇重楼种皮(A)和胚乳(B)甲醇浸提液对受体植物幼苗 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of methanol extract of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* seed coat (A) and endosperm (B) on activity of superoxide dismutase of receptor plants

度处理下均与对照无显著差异。表明试验设定最高浓度 0.08 g/mL 未达到抑制小麦及绿豆幼苗 SOD 活性的阈值, 且绿豆幼苗 SOD 活性对种皮浸提液处理反应最稳定。

同时, 随着滇重楼胚乳浸提液浓度的升高, 白菜、小麦及绿豆幼苗 SOD 活性虽然也呈现升高后减小的趋势, 分别在 0.02、0.06、0.06 g/mL 浓度下达到最大值(图 2, B), 但各受体植物在各浓度处理下均不同程度地高于相应对照, 且大多达到显著水平, 尤其是白菜和小麦幼苗 SOD 活性在 0.08 g/mL 浓度下仍显著高于对照。白菜幼苗 SOD 活性在处理浓度高于 0.02 g/mL 时逐渐减弱, 但各处理浓度间差异不显著; 小麦和绿豆幼苗 SOD 活性则在处理液浓度高于 0.06 g/mL 时显著降低。以上结果可以看出, 滇重楼种子浸提液对白菜幼苗 SOD 活性的影响显著强于小麦与绿豆, 同时, 各处理浓度的胚乳浸提液对 3 种受体植物幼苗的 SOD 活性影响均显著强于种皮浸提液。

**2.3.3 幼苗 POD 活性** 滇重楼种皮、胚乳浸提液均不同程度地促进了白菜、小麦及绿豆幼苗的 POD 活性。在 0.04 g/mL 浓度种皮甲醇浸提液处理下,

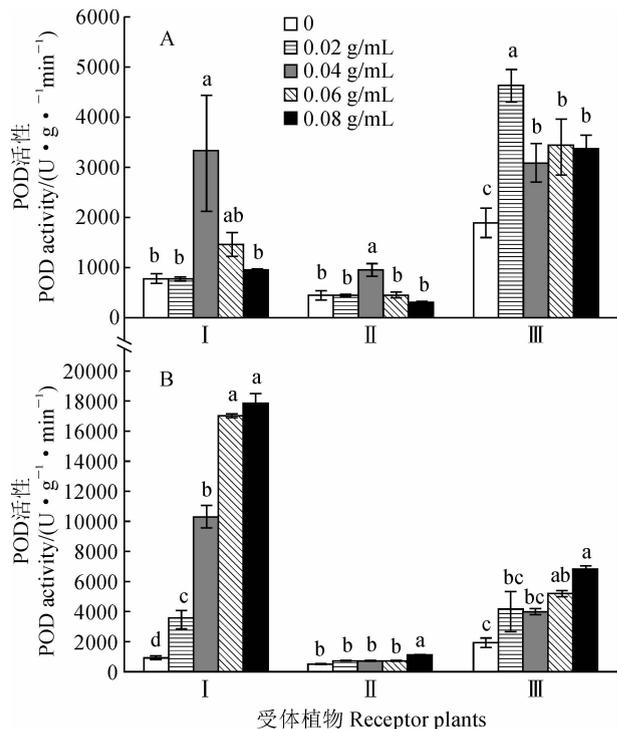


图3 滇重楼种皮(A)和胚乳(B)甲醇浸提液对受体植物幼苗 POD 活性的影响

Fig. 3 Effects of methanol extract of *P. polyphylla* var. *yumanensis* seed coat (A) and endosperm (B) on activity of peroxidase of receptor plants

白菜及绿豆幼苗体内 POD 活性均比对照显著增加,且达到最大值;在其余浸提液处理浓度处理下,它们幼苗 POD 活性虽仍不同程度高于对照组,但均未达到显著性水平;对于小麦而言,幼苗 POD 活性经 0.02 g/mL 种皮甲醇浸提液处理后显著升高,当浓度高于 0.02 g/mL 后显著下降,随后维持在相对稳定的水平,但 0.02~0.08 g/mL 浓度均显著高于对照,增幅为 64%~146%(图 3, A)。与对照相比,随着胚乳浸提液浓度的增大,3 种受体植物幼苗 POD 活性均呈现逐渐升高的趋势,但三者的增幅存在巨大差异(图 3, B)。其中,白菜幼苗 POD 活性在 0.02 g/mL 浸提液处理下就比对照显著升高了 355%,且随着浸提液浓度增加而持续大幅增大,而小麦及绿豆幼苗 POD 活性分别在 0.08 和 0.06 g/mL 处理时才比对照显著增加;当处理浓度达到 0.08 g/mL 时,白菜、绿豆及小麦幼苗 POD 活性达到最大,比对照分别增加 2 233%、93%和 248%。3 种受体植物幼苗的 POD 活性在高浓度的胚乳浸提液处理下均显著强于对照,同浓度的种皮浸提液处理下 POD 活性与对照无显著变化,可见,相比于种皮,滇重楼胚乳中的化学物质对受体植物幼苗的 POD 活性产生了更显著的影响。

### 3 讨论

内源抑制物质在休眠性种子中普遍存在,种类繁多,且存在于种子的不同部位,影响种子萌发和幼苗生长。丁言等研究发现,相同浓度条件下,凤丹牡丹胚乳浸提液对白菜种子萌发及幼苗生长的抑制作用均高于种皮浸提液<sup>[15]</sup>。林士杰等对拧筋槭种子不同部位甲醇浸提液进行生物活性测定发现,胚的甲醇浸提液对白菜种子的发芽率、苗高、根长的生长抑制活性最强,果皮和种皮次之<sup>[16]</sup>。王跃华<sup>[17]</sup>等首先发现了重楼种子对白菜种子存在萌发抑制作用,并指出萌发抑制物质存在于重楼种子的外种皮中。而本研究结果表明,滇重楼胚乳中同样存在某些萌发抑制物质,且抑制强度明显高于种皮,相同浓度条件下,胚乳浸提液对白菜、小麦及绿豆幼苗的生长的抑制作用均高于种皮浸提液。低浓度(0.02 g/mL)滇重楼胚乳甲醇浸提液处理后的白菜种子发芽率、幼苗苗高、根长及鲜重均显著低于对照,而中高浓度(0.06 g/mL)的种皮甲醇浸提液对白菜种子发芽率却仍有促进作用。滇重楼种皮与胚乳所含抑制物质在活性上的差异,是因为所含抑制物质数量不同,还是所含抑制物质种类或性质不同,尚有待进一步研究。

本研究中滇重楼种皮及胚乳甲醇浸提液对白菜、小麦及绿豆均存在不同程度的抑制作用,各浸提液对根长的抑制作用远远大于幼苗苗高,说明滇重楼种皮、胚乳内存在的内源抑制物质对幼苗地下部分的影响普遍大于地上部,这与前人关于种皮及胚乳中抑制物质对地上部、地下部影响的研究结果一致<sup>[18]</sup>。另外,本实验中 0.04 g/mL 的滇重楼胚乳甲醇浸提液显著促进了小麦幼苗苗高,但小麦根长却受到显著抑制,造成此种现象的原因可能是由于根是最先接触抑制物质的器官,最容易直接受到伤害;而地上部分是通过根系吸收的物质来满足营养需求,当根系受到的伤害达到一定程度时,地上部分才会表现出受害症状。

不同类型的种子对内源抑制物质的感受性不同<sup>[19-20]</sup>,本研究选取的白菜、小麦和绿豆种子分别代表了油脂类、淀粉类和蛋白类种子。廖源林等<sup>[21]</sup>在研究野鸦椿内源抑制物活性时发现,野鸦椿种壳和胚中的内源抑制物在性质、成分及含量上存在差异,外壳内源抑制物主要作用对象为淀粉类物质,胚乳内源抑制物主要作用于油脂类和蛋白类物质。本研究中,滇重楼种皮、胚乳甲醇浸提液显著抑制了白

菜种子萌发及幼苗生长,这种抑制作用明显高于对小麦及绿豆的影响,表明滇重楼种皮和胚乳中含有的内源抑制物质存在成分差异,且内源抑制物质主要作用对象为油脂类物质。

SOD、POD、CAT 等抗氧化酶是植物体内重要的保护酶系统,三者只有协同作用才能够及时清除植物受到逆境胁迫时所产生的大量活性氧和自由基,防御膜质过氧化而使细胞膜免受伤害,增强植物的抗逆性,从而维持细胞的正常代谢<sup>[22]</sup>。本研究中,经滇重楼胚乳甲醇浸提液处理后,白菜、小麦及绿豆幼苗 CAT 活性均显著下降,POD 与 SOD 活性显著上升,说明滇重楼胚乳中存在抑制物使植物幼苗产生生理响应,启动了抗氧化酶体系。随着滇重楼种皮、胚乳浸提液浓度的增加,抑制物质含量增多,CAT 活性持续降低,表明滇重楼种子内源抑制物质能直接抑制幼苗 CAT 活性,使植物的抗逆性以及防止细胞衰老的能力降低。低浓度浸提液处理

使受体幼苗 SOD、POD 活性升高,可能是因为低浓度内源抑制物质改变了细胞内的活性氧代谢平衡,增加了活性氧的积累,致使体内抗氧化系统机能应激加强,以清除体内过多的活性氧。当浓度持续升高时,活性氧过量堆积,超过一定范围,SOD、POD 不能及时清除时,过量的活性氧对细胞造成破坏,导致 SOD、POD 活性出现降低。

滇重楼自然状态下萌发率低,除外界环境等因素的影响外,其种子自身含有抑制萌发的内源物质,也是其萌发率低的原因之一。本研究通过滇重楼种皮、胚乳甲醇浸提液的生物测定,可以推断滇重楼种皮及胚乳甲醇浸提液中含有某些化学成分,这些成分能抑制种子萌发及幼苗生长,影响幼苗抗氧化酶活性,然而滇重楼种皮与胚乳中所含的抑制物在活性上存在差异,因此要确定滇重楼种子内源抑制物质的成分种类及含量还需要进一步的深入研究。

## 参考文献:

- [1] 李 恒. 重楼属植物[M]. 北京:科学出版社,1998:1-7.
- [2] 汤海峰,赵越平,蒋永培. 重楼属植物的研究概况[J]. 中草药, 1998, **29**(12):839-842.  
TANG H F, ZHAO Y P, JIANG Y P. Research survey of *Paris Linnaeus* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1998, **29**(12):839-842.
- [3] 王丽萍,起学伟. 云南重楼野生驯化及栽培技术研究初探[J]. 中国野生植物资源, 2001, **21**(1):62-63.  
WANG L P, QI X W. Study on wild domestication and cultivation techniques of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2001, **21**(1):62-63.
- [4] 邓子超,黄 玮,张文生,等. 滇重楼研究进展[J]. 中国医药技术经济与管理, 2007, **2**(1):57-58.  
DENG Z C, HUANG W, ZHANG W S, et al. Research progress of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *China Pharmaceutical Technology Economics & Management*, 2007, **2**(1):57-58.
- [5] 李运昌. 重楼属植物引种栽培的研究— I. 滇重楼的有性繁殖试验初报[J]. 云南植物研究, 1982, **4**(4):429-431.  
LI Y C. Study on introduction and Cultivation of *Paris Linnaeus*—— I. Preliminary study of sexual reproduction in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 1982, **4**(4):429-431.
- [6] 宋会兴,刘光立,高素萍,等. 四川牡丹种子浸提液内源抑制物活性初探[J]. 园艺学报, 2012, **39**(2):370-374.  
SONG H X, LIU G L, GAO S P, et al. Effects of crude extracts of *Paeonia decomposita* seeds on germination and activities of antioxidant enzyme of *Brassica pekinensis* [J]. *Acta Hort. Sin.*, 2012, **39**(2):370-374.
- [7] 覃嘉佳,胡 滨,黄焱辉,等. 圆齿野鸦椿种子内含物的提取·分离以及生物测定[J]. 安徽农业科学, 2011, **39**(32):19 693-19 694.  
QIN J J, HU B, HUANG Y H, et al. Extraction, separation and biological measurement of growth regulating substance of seeds of *Euscaphis konishii* Hayata [J]. *J. Anhui Agric. Sci.*, 2011, **39**(32):19 693-19 694.
- [8] 杨万霞,方升佐. 青钱柳种皮甲醇浸提液的生物测定[J]. 植物资源与环境学报, 2005, **14**(4):11-14.  
YANG W X, FANG S Z. The bioassay of the methanol extract from *Cyclocarya paliurus* seed coat [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2005, **14**(4):11-14.
- [9] 张艳杰,鲁顺保,高捍东. 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[J]. 江西农业大学学报, 2010, **32**(3):553-559.  
ZHANG Y J, LU S B, GAO H D. Inhibition of different extraction components of methanol soaked from seed of *Taxus chinensis* var. *mairei* on cabbage seed [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2010, **32**(3):553-559.
- [10] 王亚麒,陈丹梅,袁 玲. 黄连须根浸提液对萹苳、绿豆和白

- 菜的化感效应[J].草业学报,2015,**24**(6):142-149.
- WANG Y Q, CHEN D M, YUAN L. Allelopathic effect of extracts from the fibrous roots of *Coptis chinensis* on *Lactuca compositae*, *Vigna radiate* and *Brassica rapa pekinensis*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, **24**(6):142-149.
- [11] 戴 萍, 光皮树种子萌发的生理特性及破眠技术研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2011.
- [12] 程汉亭, 范志伟, 李鸣光, 等. 金钟藤种子低萌发率原因探讨[J]. 广西植物, 2012, **32**(4): 522-526.
- CHENG H T, FAN Z W, LI M G, *et al.* Probing the cause of the low germination rate of *Merremia boisiana* seed[J]. *Guihaia*, 2012, **32**(4): 522-526.
- [13] 吴啸业. 红豆杉种子抑制物质的初步研究[J]. 植物生理学通讯, 1985, (4): 23-26.
- WU X Y. Preliminary study on the inhibitory substances of *Taxus chinensis* seeds[J]. *Plant Physiology Journal*, 1985, (4): 23-26.
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164.
- [15] 丁 言, 郭太君, 孙晓刚, 等. 凤丹牡丹种子浸提液对白菜种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 浙江农业学报, 2015, **27**(6): 961-965.
- DING Y, GUO T J, SUN X G, *et al.* Effect of *Paeonia ostii* 'Fengdan' seed extracts on seed germination and seedling growth of cabbage [J]. *Acta Agriculture Zhejiangensis*, 2015, **27**(6): 961-965.
- [16] 林士杰, 徐 丹, 崔 珍, 等. 拧筋槭种子甲醇浸提液生物活性测定[J]. 中国农学通报, 2014, **30**(10): 19-22.
- LIN S J, XU D, CUI Z, *et al.* Effects of inhibitors on the dormancy of *Acer triflorum* seed[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, **30**(10): 19-22.
- [17] 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, 1: 53.
- WANG Y H, TIAN M L, JIANG T T, *et al.* Allelopathy effect of seeds testa of *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 1: 53.
- [18] 黄 玮, 孟繁蕴, 张文生, 等. 滇重楼种子休眠机理研究[J]. 植物生理科学, 2008, **24**(12): 226-242.
- HUANG W, MENG F Y, ZHANG W S, *et al.* Study on seed dormancy mechanism of *Paris polyphylla* var. *Yunnanensis*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, **24**(12): 226-242.
- [19] 唐凤鸾, 陈月圆, 李典鹏, 等. 巨尾桉叶片挥发物对三种植物种子萌发及幼苗生长的化效应[J]. 广西植物, 2011, **34**(4): 450-454.
- TANG F L, CHEN Y Y, LI D P, *et al.* Allelopathic effects of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* leaf volatile on seed germination and seedling growth[J]. *Guihaia*, 2011, **34**(4): 450-454.
- [20] 中山包. 发芽生理学[M]. 马云彬, 译. 北京: 中国农业出版社, 1988: 181-196.
- [21] 廖源林, 蔡仕珍, 李 西, 等. 野鸦椿种子内源抑制物活性初探[J]. 广西植物, 2016, **36**(5): 600-606.
- LIAO Y L, CAI S Z, LI X, *et al.* Preliminary study of endogenous inhibitors activity of *Euscaphis japonica* seeds [J]. *Guihaia*, 2016, **36**(5): 600-606.
- [22] 鲍红春, 郝丽珍, 张凤兰, 等. 沙芥水浸提液对白菜种子萌发和幼苗生长的化感作用[J]. 植物生理学报, 2015, **51**(7): 1 109-1 116.
- BAO H C, HAO L Z, ZHANG F L, *et al.* Allelopathic effects of aqueous extracts of *Pugionium cornutum* on seed germination and seedling growth of cabbage[J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, **51**(7): 1 109-1 116.

(编辑: 裴阿卫)