



朴树种子内源抑制物的研究

黄莹 高捍东 高榕 沈思凡

Study on the Endogenous Inhibitors in the Seeds of *Celtis sinensis*

Huang Ying, Gao Handong, Gao Rong, Shen Sifan

引用本文:

黄莹, 高捍东, 高榕, 沈思凡. 朴树种子内源抑制物的研究[J]. 西南林业大学学报, 2025, 45(2):11-19. doi: 10.11929/j.swfu.202404008

Huang Ying, Gao Handong, Gao Rong, Shen Sifan. Study on the Endogenous Inhibitors in the Seeds of *Celtis sinensis*[J]. Journal of Southwest Forestry University(Natural Science), 2025, 45(2):11-19. doi: 10.11929/j.swfu.202404008

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202404008>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

秤锤树的种实基本性状与种子休眠机理研究

Basic Characteristic and Dormancy Mechanism of *Sinojackia xylocarpa* Fruit and Seed

西南林业大学学报. 2021, 41(2): 145-150 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202006032>

PEG处理对山梨种子热休眠的预防作用研究

The Preventive Effect of PEG Treatment on Thermal Dormancy of *Pyrus ussuriensis* Seeds

西南林业大学学报. 2024, 44(6): 21-28 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202401032>

中国沙棘平茬萌蘖能力对内源激素的响应

Response of Stump Sprouting Ability to Endogenous Hormones in *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis*

西南林业大学学报. 2020, 40(3): 82-87 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201912043>

碱性盐胁迫对伯乐树种子萌发及幼苗生长的影响

Effects of Alkaline Salt Stress on Seed Germination and Seedling Growth of *Bretschneidera sinensis*

西南林业大学学报. 2020, 40(2): 23-28 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.201904017>

不同种源红花荷种子萌发及幼苗生长特性研究

Study on Seed Germination and Seedling Growth Characteristics of *Rhodoleia championii* from Different Provenances

西南林业大学学报. 2024, 44(6): 29-36 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202312035>

花榈木人工种子胶囊制作及其萌发效果研究

Study on the Preparation and Germination of Artificial Seed Capsule for *Ormosia henryi*

西南林业大学学报. 2022, 42(3): 10-17 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202104004>

朴树种子内源抑制物的研究

黄莹 高捍东 高榕 沈思凡

(南京林业大学林草学院, 水土保持学院, 国家林业和草原局南方林木种子检验中心,
南方现代林业协同创新中心, 江苏南京 210037)

摘要: 采用系统溶剂法对朴树种子种胚及种壳的浸提液分别分离出石油醚相、乙醚相、乙酸乙酯相、甲醇相, 并利用白菜种子的发芽试验检测该5个相的生物活性, 同时结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪和生物测定, 探讨抑制物与朴树种子休眠之间的关系。结果表明: 朴树种子各分离相均对白菜种子发芽存在一定的抑制作用, 其中以乙酸乙酯相和乙醚相的抑制性最强, 其次分别是甲醇相和石油醚相。GC-MS测定和生物检测结果表明, 朴树种子内源抑制物成分主要为有机酸(醋酸、棕榈酸)、酯类物质(邻苯二甲酸二甲酯)以及一些苯类物质(丁基化羟基甲苯)。

关键词: 朴树; 种子休眠; 内源抑制物; GC-MS

中图分类号: S792

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2025)02-0011-09

引文格式: 黄莹, 高捍东, 高榕, 等. 朴树种子内源抑制物的研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2025, 45(2): 11-19. Huang Y, Gao H D, Gao R, et al. Study on the Endogenous Inhibitors in the Seeds of *Celtis sinensis*[J]. Journal of Southwest Forestry University, 2025, 45(2): 11-19. DOI: [10.11929/j.swfu.202404008](https://doi.org/10.11929/j.swfu.202404008)



Study on the Endogenous Inhibitors in the Seeds of *Celtis sinensis*

Huang Ying, Gao Handong, Gao Rong, Shen Sifan

(College of Forestry and Grassland, College of Soil and Water Conservation, Nanjing Forestry University / Southern Tree Seed Inspection Center, National Forestry and Grassland Administration / Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Jiangsu 210037, China)

Abstract: The petroleum ether phase, ether phase, ethyl acetate phase and methanol phase were separated from the extract of seed embryo and seed shells of *Celtis sinensis* seeds by systematic solvent method, and the biological activity of these 5 phases was detected by the germination test of cabbage seeds. At the same time, gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS) combined with bioassay, were used to explore the relationship between the inhibitors and seed dormancy. The results showed that each separated phase of *C. sinensis* seeds had a certain inhibitory effect on the germination of cabbage seeds, among which ethyl acetate phase and ether phase were the strongest, followed by methanol phase and petroleum ether phase, respectively. Combined with the results of GC-MS and biological detection, it was found that the main components of endogenous inhibitors were organic acids: acetic acid, palmitic acid, and ester substances: dimethyl phthalate. And some benzene substances: butylated hydroxytoluene, may also have an inhibitory effect.

Key words: *Celtis sinensis*; seed dormancy; endogenous inhibitor; GC-MS

收稿日期: 2024-04-04; 修回日期: 2024-05-28

基金项目: 国家林业和草原局国家级成果推广项目(2020133138)资助。

第1作者: 黄莹(1999—), 女, 硕士研究生。研究方向: 森林培育学。Email: nlhuangying@njfu.edu.cn。

通信作者: 高捍东(1964—), 男, 博士, 教授, 博士生导师。研究方向: 森林培育学。Email: gaohd@njfu.edu.cn。

朴树 (*Celtis sinensis*) 为榆科 (*Ulmaceae*) 朴属 (*Celtis*) 落叶乔木, 广泛分布于我国的淮河流域、秦岭以南至华南各省区。因其树冠大、树干通直, 具有较好的遮荫效果而广泛作为行道树树种, 具有一定的观赏效果^[1]。此外, 朴树树叶具有较强的抗烟尘特性^[2], 在对抗雾霾中可以起到一定的作用。同时朴树还具有较高的药用价值, 树皮可用于治疗腰痛; 树枝可用于治疗痢疾和感冒; 树叶中含有丰富的异牡荆素^[3], 针对银杏酸导致的过敏性皮炎具有较好的治疗效果^[4-5]。

在生产中朴树主要以播种方式繁殖。朴树种子于9月份成熟, 去除果肉后取出干净种子阴干, 经层积催芽后播种。但是朴树种子具有明显的休眠现象, 严重阻碍了朴树的生产繁育。谢清华等^[6]认为朴树种子不仅存在种皮机械障碍, 还可能存在一定的生理休眠。刘序^[7]认为导致珊瑚朴 (*Celtis julianae*) 种子休眠的主要因素是种子中存在抑制其发芽的物质。吴小娴等^[8]通过提取珊瑚朴外种皮甲醇浸提液及其对白菜种子发芽的抑制效应, 确认珊瑚朴外种皮中存在某种萌发抑制物质。

抑制物质是指会延缓种子发芽甚至导致种子不发芽的物质, 主要包括有机酸类、酚类、醛类、不饱和内酯类、芳香油、氰化氢、生物碱和乙烯等^[9]。研究已经证实珊瑚朴种子存在休眠现象, 且导致其休眠的重要原因之一是基于珊瑚朴种子种皮中所含有的抑制物质。朴树与珊瑚朴为同属树种, 已经证实存在休眠现象, 然而有关朴树种子中是否含有内源抑制物还缺少系统的研究。因此本研究将分别通过对种皮及种胚的浸提液提纯分离, 同时结合气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术, 鉴定各提取相中的抑制物质同时测定其生物活性, 探讨内源抑制物与种子休眠之间的关系, 以期朴树种子休眠的原因及解除休眠的方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

朴树种子产于江西省九江市德安县高塘乡, 地处北纬 29° 24' 50.8", 东经 115° 46' 35.0"。于 2022 年 11 月采集, 清水浸泡 2 d 后通过搓洗去除

果皮、果肉, 得到完整种子, 洗净、阴干并置于 4 ℃ 冰箱中保存备用。供试白菜 (*Brassica rapa*) 种子购于沈阳博思特农业科技有限公司, 纯度 ≥ 96%。

1.2 试验方法

1.2.1 朴树种子抑制物的提取

分别称取朴树种子种胚及种壳 10 g, 粉碎并分别置于 500 mL 三角瓶中, 加入 150 mL 80% 甲醇溶液, 搅拌均匀后覆盖保鲜膜, 在 4 ℃ 冰箱中充分浸提 24 h, 其间数次晃动三角瓶, 使得浸提充分。过滤, 取浸提液保存, 重复上述操作 2 次。将得到的 3 份种胚浸提液及种壳浸提液充分混合后, 使用旋转蒸发仪于 60 ℃ 下减压蒸除甲醇, 将浓缩液定容为 60 mL, 分别得到 0.167 g/mL 的种壳和种胚甲醇粗提液, 分别将其稀释成原浓度的 25%、50%、75% 和 100% 的稀释液 (分别为 0.04、0.08、0.125、0.167 g/mL) 置于 4 ℃ 冰箱中保存^[7]。

1.2.2 不同浓度甲醇粗提液生物活性测定

随机选取 100 粒白菜种子, 分别置于上述 0.04、0.08、0.125、0.167 g/mL 的甲醇浸提液中浸种 3 h, CK 组为蒸馏水 6 mL 浸种 3 h。随后向加有滤纸的培养皿中分别加入浸种完成的白菜种子 100 粒。共 10 个处理, 每处理重复 3 次。置于 25 ℃ 光照培养箱中, 48 h 后记录发芽数^[10], 72 h 后用数显卡尺 (精确度为 0.01 mm) 测量白菜种子的主根长和苗高。

1.2.3 朴树种子抑制物的分离

参照黄耀阁等^[11]对西洋参 (*Panax quinquefolius*) 种子中抑制物质的提取方法。分别称取朴树种子种胚及种壳 60 g, 粉碎后分别置于 500 mL 三角瓶中, 加入 400 mL 80% 甲醇溶液, 搅拌均匀后覆盖保鲜膜, 在 4 ℃ 冰箱中充分浸提 24 h, 其间数次晃动三角瓶, 使得浸提充分。过滤, 取浸提液保存, 重复上述操作 2 次。将得到的 3 份种胚浸提液及种壳浸提液充分混合后, 使用旋转蒸发仪于 60 ℃ 下减压蒸除甲醇后, 得到甲醇浸提液。接着按照图 1 朴树种子内源物初步分离流程图, 分别得到石油醚相、乙醚相、乙酸乙酯相和甲醇相, 使用旋转蒸发仪对各分离相浓缩蒸发, 最终定容至 100 mL, 置于 4 ℃ 冰箱中保存。

1.2.4 各分离相的生物活性测定

随机选取 50 粒白菜种子, 分别置于上述各分离相的 6 mL 溶剂中浸泡 3 h, CK 组以蒸馏水浸泡 3 h。随后向加有滤纸的培养皿中注入 2 mL 的各分离相溶剂, 置于通风橱放置, 待有机相溶液挥发完全后分别对应加入浸泡过相应溶剂的白菜种子 50 粒, CK 组中蒸馏水 2 mL。共 10 个处理, 每处理重复 3 次。置于 25 °C 光照培养箱中, 48 h 后记录发芽数^[10], 72 h 后使用数显卡尺(精确度为 0.01 mm)测量白菜种子的主根长和苗高。

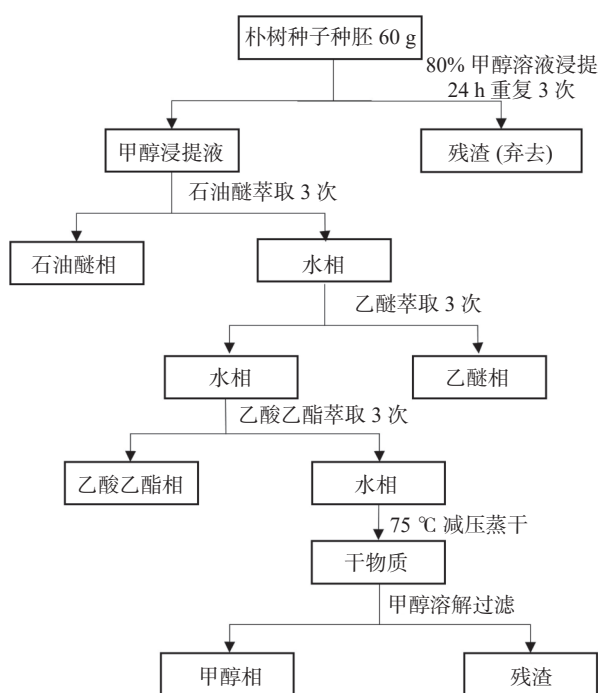


图1 朴树种子中内源物初步分离流程

Fig. 1 Preliminary separation process of endogenous substances from seeds of *C. sinensis*

1.2.5 朴树种子各分离相化学成分鉴定

分别量取上述过程制得的朴树种子种壳及种胚各分离相浓缩液 50 mL, 并根据不同有机相沸点再次置于旋转蒸发仪中蒸发浓缩至 3 mL, 并由南京林业大学现代分析测试中心鉴定。采用 Trace ISQ1300 GC-MS (热裂解) 气质联用仪 (赛默飞, 美国) 鉴定朴树种子内源抑制物成分, 气相色谱条件: DB-5MS 毛细管柱 (30 mm × 0.25 mm, 0.25 μm); 柱温: 50 ~ 250 °C; 升温程序: 50 °C 保持 2 min, 后 15 °C/min 升温至 250 °C, 保持 8 min; 使用高纯氦气 (纯度 > 99.999%) 作为载气, 并采用恒流模式, 流速为 1 mL/min; 进样口温度为 250 °C; 采用不分流模式进样。质谱条件: 离子源为 EI, 电离电压为 70 eV, 离子源温度为 250 °C,

采用全扫描检测模式采集质量谱, 扫描范围为 33 ~ 450。使用 GC-MS 对各分离相萃取液进行分析后, 得到各个有机相的总离子流色谱图, 将总离子积分, 采用面积归一化法, 得到各个有机物的相对含量。

1.3 数据分析

使用 Excel 软件整理数据, 使用 SPSS 24 软件进行单因素方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同浓度甲醇粗提液对白菜种子的影响

由表 1 可知, 朴树种子甲醇粗提液会对白菜种子的发芽及生长产生抑制作用, 且抑制程度与甲醇浸提液浓度呈正相关。CK 的发芽率高于其他处理, 为 93.33%, 种胚中甲醇浸提液浓度为 25%、50%、75%、100% 时的发芽率分别为 80.33%、13.67%、0、0。与 CK 比较, 发芽率分别降低 13.00%、79.66%、93.33% 和 93.33%, 均与 CK 差异显著 ($P < 0.05$); 种壳中甲醇浸提液浓度为 25%、50%、75%、100% 时的发芽率分别为 89.00%、31.33%、0、0。与 CK 比较, 发芽率分别降低 4.33%、62.00%、93.33% 和 93.33%, 除了浓度为 25% 时与 CK 差异不显著外, 其他处理组与 CK 差异均显著 ($P < 0.05$)。同一浸提液浓度不同部位的发芽率也存在差异, 抑制效果表现为种胚 > 种壳。甲醇粗提液对白菜种子的生长同样产生了影响。相较于 CK 组, 种胚中甲醇浸提液浓度为 25%、50%、75%、100% 时白菜种子平均根长分别降低了 13.58、22.71、25.88、25.80 mm, 平均苗高分别降低了 0.78、5.62、8.80、8.80 mm; 种壳中甲醇浸提液浓度为 25%、50%、75%、100% 时白菜种子平均根长分别降低了 15.77、17.80、25.88、25.88 mm, 平均苗高分别降低了 1.44、4.46、8.80、8.80 mm。由此可见, 朴树种子种胚和种壳当中都存在抑制物质, 且种胚中的抑制物对白菜种子发芽的抑制程度更大。

2.2 种壳及种胚各分离相的生物活性测定

2.2.1 各有机相对白菜种子发芽的影响

种壳及种胚的各分离相对白菜种子发芽的结果见表 2。其中较 CK 而看, 各分离相对白菜种子的发芽率均有影响。种壳及种胚的各分离相对白菜种子发芽的抑制率不相同, 总体表现为石油醚相的抑制程度较低, 乙酸乙酯相和乙醚相的抑制程度较高。对于种壳而言, 石油醚相的抑制效

果不显著,仅下降了 10.00%。乙醚相、乙酸乙酯相及甲醇相的抑制效果显著 ($P<0.05$),分别下降了 92.00%、92.70% 和 83.40%,其中以乙酸乙酯相的抑制效果最明显,在本实验中表现为完全抑制白菜种子的发芽。对于种胚而言,甲醇相的抑制效果反而较小,仅下降了 16.00%;其次是石油醚相,下降了 28.70%。乙醚相和乙酸乙酯相的抑制效果最大,甚至在规定发芽天数内完全抑制白菜种子的发芽。石油醚相、乙醚相、乙酸乙酯相和甲醇相的抑制效果较 CK 都显著。同一分离相不同部位中种子的发芽率也有一些差异。在石油醚相中,抑制物的抑制程度表现为种胚>种壳;在甲醇相中,抑制程度表现为种壳>种胚。

表 1 不同部位不同浓度甲醇粗提液对白菜种子的影响

Table 1 Effects of different concentrations of methanol crude extract on cabbage seeds				
部位	浸提液浓度	发芽率/%	根长/mm	苗高/mm
种胚	CK	93.33 ± 1.53 ^a	25.88 ± 10.82 ^a	8.80 ± 2.02 ^a
	25%	80.33 ± 5.51 ^b	12.30 ± 10.82 ^b	8.02 ± 2.24 ^a
	50%	13.67 ± 2.52 ^d	3.17 ± 1.26 ^{cd}	3.18 ± 1.26 ^b
	75%	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^c
	100%	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^c
种壳	CK	93.33 ± 1.53 ^a	25.88 ± 10.82 ^a	8.80 ± 2.02 ^a
	25%	89.00 ± 4.00 ^a	10.11 ± 4.97 ^{bc}	7.36 ± 2.41 ^a
	50%	31.33 ± 7.02 ^c	8.08 ± 4.93 ^{bcd}	4.34 ± 1.86 ^b
	75%	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^c
	100%	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^c

注:不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

表 2 朴树种子不同部位各分离相对白菜种子发芽的影响

Table 2 The effect of the separation of different parts of <i>C. sinensis</i> seeds on the germination of cabbage			
部位	分离相	发芽率/%	发芽率下降率/%
种壳	CK	92.67 ± 5.03 ^a	
	石油醚相	82.67 ± 8.33 ^{ab}	10.00
	乙醚相	1.33 ± 1.16 ^d	91.33
	乙酸乙酯相	0.00 ^d	92.67
	甲醇相	9.33 ± 14.47 ^d	83.33
种胚	CK	92.67 ± 5.03 ^a	
	石油醚相	64.00 ± 7.21 ^c	28.67
	乙醚相	0.00 ^d	92.67
	乙酸乙酯相	0.00 ^d	92.67
	甲醇相	76.67 ± 8.33 ^b	16.00

注:不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

由此可见,各部位不同分离相均对白菜种子的发芽率产生不同程度的影响。其中,抑制作用较强的为乙醚相和乙酸乙酯相,推测朴树种子的内源抑制物质主要存在于乙醚相和乙酸乙酯相中。石油醚相对种胚的抑制程度较大,甲醇相对种壳的抑制程度较大。

2.2.2 各分离相对白菜幼苗生长的影响

由表 3 可知,在种壳的各分离相中,甲醇相、乙醚相和乙酸乙酯相的根长比 CK 组分别降低 30.77、33.56、34.68 mm,达到显著差异水平 ($P<0.05$),说明根的生长受到了不同程度的抑制作用,而石油醚相处理的根长比 CK 组中的根长还要长 4.21 mm,由此推测石油醚相中可能存在某些促进白菜种子根生长的物质。在苗高中,甲醇相、乙醚相和乙酸乙酯相比 CK 分别降低 5.06、7.60、7.60 mm,达到差异显著 ($P<0.05$) 水平,在石油醚相中促进苗高的生长,较 CK 增长 1.31 mm。说明甲醇相、乙醚相、乙酸乙酯相中都主要存在抑制种子萌发生长的物质,而石油醚中除了一些抑制物之外,还可能存在一些促进幼苗生长的物质。

表 3 朴树种子种壳、种胚中各分离相对白菜幼苗生长的影响

Table 3 Effects of different isolates in seed shells and embryo on the growth of cabbage seedlings			
部位	分离相	根长/mm	苗高/mm
种壳	CK	34.68 ± 13.33 ^a	7.60 ± 2.06 ^{ab}
	甲醇	3.91 ± 0.67 ^{cd}	2.54 ± 0.40 ^c
	石油醚	38.89 ± 14.78 ^a	8.91 ± 2.65 ^{ab}
	乙醚	1.12 ± 0.17 ^d	0.00 ^c
	乙酸乙酯	0.00 ^d	0.00 ^c
种胚	CK	34.68 ± 13.33 ^a	7.60 ± 2.06 ^{ab}
	甲醇	16.85 ± 10.17 ^{bc}	6.47 ± 2.03 ^b
	石油醚	27.46 ± 10.79 ^{ab}	10.45 ± 3.15 ^a
	乙醚	0.00 ^d	0.00 ^c
	乙酸乙酯	0.00 ^d	0.00 ^c

注:不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

在种胚的各分离相中,白菜种子根长在甲醇相、乙醚相和乙酸乙酯相中分别较 CK 降低 17.83、34.68、34.68 mm,且差异显著 ($P<0.05$),石油醚相差异不显著。白菜苗高在乙醚相和乙酸乙酯相中,较 CK 组分别降低 7.60 mm 和 7.60 mm,

差异显著 ($P<0.05$), 甲醇相和石油醚相均不显著。石油醚相白菜苗高较 CK 组增长 2.85 mm, 可能是石油醚相中的某些物质对白菜幼苗的生长产生促进作用。其中甲醇相对白菜苗高的抑制程度表现为种壳>种胚。

综上可知, 各部位在各分离相对白菜种子的生长有不同程度的影响。其中乙醚相和乙酸乙酯相对白菜的生长抑制程度较大, 可能在相中存在主要的影响种子休眠的物质。石油醚相中可能存在某些促进白菜种子生长的物质, 对白菜种子的生长有一定的促进作用。

2.3 朴树种子主要内源抑制物组分成分的鉴定

通过 GC-MS 气相色谱筛选出了种壳及种胚中各分离相中的化合物, 其中种壳各分离相离子流程图如图 2 所示。种胚分别提取到 5、6、5 种和 10 种, 见表 4。种壳提取液中甲醇相、石油醚相、乙醚相和乙酸乙酯相分别提取到了 4、4、6 种和 6 种, 见表 5。

总体而言种胚中所取到的抑制物质较种壳中的多。其中种壳甲醇相中检测到 1 种醛类物质, 5-羟甲基糠醛, 相对含量为 9.83%; 酯类物质 1 种, 棕榈酸甲酯, 相对含量 1.88%。乙醚相中检测到有机酸类 2 种, 棕榈酸、醋酸, 总相对含量为 11.25%; 酚类物质 1 种, 2,4-二叔丁基苯酚, 相对含量 4.08%; 苯类物质 1 种, 丁基化羟基甲苯, 相对含量 19.89%。乙酸乙酯相中检测到有机酸类 2 种, 醋酸和棕榈酸, 总相对含量为 28.83%; 烷类物质 1 种, 二甲基硅烷二醇, 相对含量 23.91%; 酯类物质 1 种, 邻苯二甲酸二甲酯, 相对含量 12.75%; 醛类物质 1 种, 5-羟甲基糠醛, 相对含量 8.86%。石油醚相中检测到酯类物质 2 种, 二酸二(2-乙基己基)酯和棕榈酸甲酯, 总相对含量 4.09%; 有机酸类 1 种, 棕榈酸, 相对含量 2.30%; 酚类物质 1 种, 2,4-二叔丁基苯酚, 相对含量 8.52%。

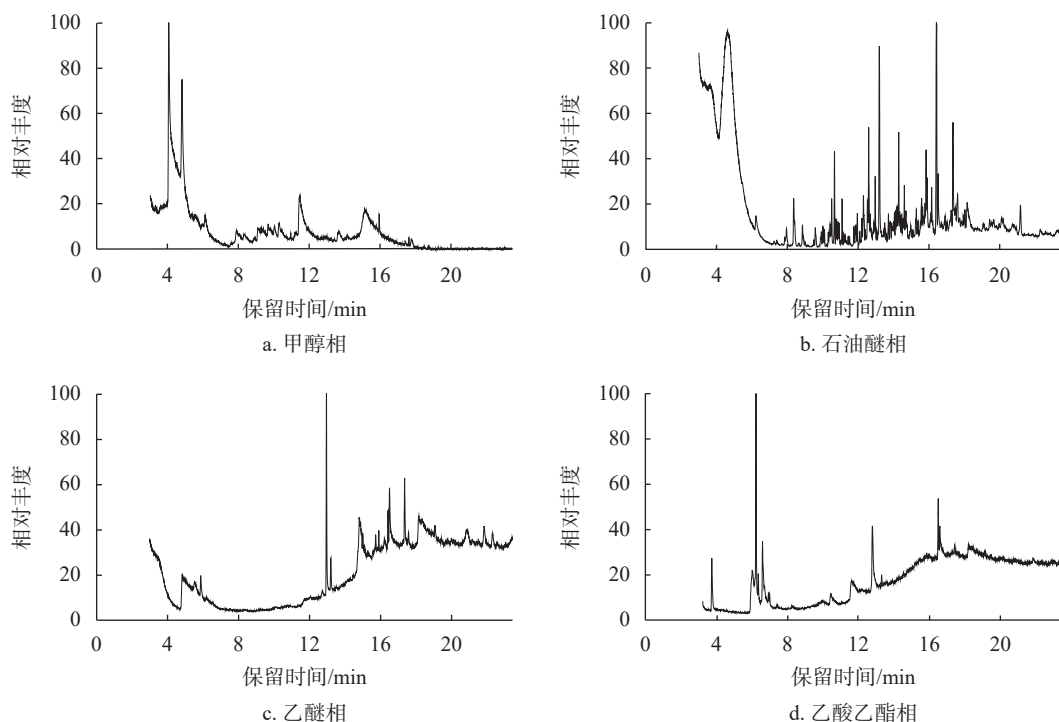


图 2 朴树种壳各分离相提取物离子流程

Fig. 2 Ionic process of extracts from different separation phases of *C. sinensis* seed shells

种胚甲醇相检测到酚类物质 2 种, 2,6-二甲苯酚和 2,4-二叔丁基苯酚, 总相对含量 9.88%; 有机酸类 1 种, 棕榈酸, 相对含量 5.56%; 醛类物质 1 种, 羟甲基糠醛, 相对含量 14.10%。乙醚相中检测到酯类物质 2 种, 棕榈酸甲酯和异胆酸乙酯, 总相对含量为 6.54%; 有机

酸类 1 种, 棕榈酸, 相对含量 15.26%; 酚类物质 1 种, 2,4-二叔丁基苯酚, 相对含量 10.08%; 苯类物质 1 种, 丁基化羟基甲苯, 相对含量 17.52%。乙酸乙酯相中检测到有机酸类 2 种, 棕榈酸和醋酸, 总相对含量为 16.38%; 烷类物质 1 种, 甲基二乙氧基异丙氧基硅烷, 相对含量

6.12%; 醇类物质 1 种, 二甲基硅烷二醇, 相对含量 8.1%; 酯类物质 1 种, 邻苯二甲酸二甲酯, 相对含量 13.00%; 醛类物质 1 种, 5-羟甲基糠醛, 相对含量 23.8%。石油醚相中检测到醇类物质 2 种, 二甲基硅烷二醇和乙醇, 总相对含量为 40.28%; 有机酸类 1 种, 棕榈酸, 相对含量 4.01%; 烷类物质 2 种, 十甲基环五硅氧烷, 相对含量 3.97%; 醛类物质 1 种, 羟甲基糠醛, 相对含量 3.11%。

表 4 朴树种子种胚各分离相的化合物分类及相对含量

Table 4 Classification and relative content of compounds in each isolated phase of the embryo of *C. sinensis* seeds

有机相	种胚各相物质的种类及相对含量/%
石油醚相	二甲基硅烷二醇 (29.06%)、 <i>N</i> -丙烯酰吗啉 (18.72%)、乙醇 (11.22%)、棕榈酸 (4.01%)、十甲基环五硅氧烷 (3.97%)、5-羟甲基糠醛 (3.11%)
乙醚相	丁基化羟基甲苯 (17.52%)、棕榈酸 (15.26%)、2,4-二叔丁基苯酚 (10.08%)、棕榈酸甲酯 (3.70%)、异胆酸乙酯 (2.84%)
乙酸乙酯相	5-羟甲基糠醛 (23.80%)、邻苯二甲酸二甲酯 (13.00%)、棕榈酸 (9.31%)、二甲基硅烷二醇 (8.10%)、醋酸 (7.07%)、反式角鲨烯 (6.26%)、甲基二乙氧基异丙氧基硅烷 (6.12%)、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(<i>H</i>)-吡喃-4-酮 (3.84%)、2,4-二羟基-2,5-二甲基-3 (2 <i>H</i>)-呋喃-3-酮 (2.84%)
甲醇相	5-羟甲基糠醛 (14.10%)、棕榈酸 (5.56%)、2,6-二甲氧基苯酚 (5.50%)、2-羟基-丁酸酮 (5.48%)、2,4-二叔丁基苯酚 (4.38%)

表 5 朴树种子种壳各分离相的化合物分类及相对含量

Table 5 Classification and relative content of compounds in each isolated phase of the shells of *C. sinensis* seeds

有机相	种胚各相物质的种类及相对含量/%
石油醚相	2,4-二叔丁基苯酚 (8.52%)、棕榈酸 (2.30%)、己二酸二(2-乙基己)酯 (1.79%)、棕榈酸甲酯 (1.47%)、
乙醚相	丁基化羟基甲苯 (19.89%)、反式角鲨烯 (15.62%)、棕榈酸 (8.20%)、2,4-二叔丁基苯酚 (4.08%)、2-氯乙基二甲胺 (3.52%)、醋酸 (3.05%)
乙酸乙酯相	二甲基硅烷二醇 (23.91%)、醋酸 (23.26%)、邻苯二甲酸二甲酯 (12.75%)、5-羟甲基糠醛 (8.86%)、棕榈酸 (5.57%)、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(<i>H</i>)-吡喃-4-酮 (3.44%)
甲醇相	(2-巯基乙基)-胍硫酸盐 (20.03%)、5-羟甲基糠醛 (9.83%)、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(<i>H</i>)-吡喃-4-酮 (3.69%)、棕榈酸甲酯 (1.88%)

种壳中甲醇相所包含的抑制物质中相对含量较多的主要是 (2-巯基乙基)-胍硫酸盐 (20.03%)、5-羟甲基糠醛 (9.83%) 等; 石油醚相中含量相对较多的为: 2,4-二叔丁基苯酚 (8.52%) 等; 乙醚相中相对含量较多的物质分别是: 丁基化羟基甲苯 (19.89%)、反式角鲨烯 (15.62%)、棕榈酸 (8.2%) 等; 乙酸乙酯中所含相对含量较多的分别是: 二甲基硅烷二醇 (23.91%)、醋酸 (23.26%)、邻苯二甲酸二甲酯 (12.75%)、5-羟甲基糠醛 (8.86%)、棕榈酸 (5.57%) 等; 种胚各分离相中甲醇相中相对含量较多的物质分别是: 羟甲基糠醛 (14.1%)、棕榈酸 (5.56%)、2,6-二甲氧基苯酚 (5.5%)、2-羟基-丁酸酮 (5.48%) 等; 石油醚相中主要为: 二甲基硅烷二醇 (29.06%)、*N*-丙烯酰吗啉 (18.72%)、乙醇 (11.22%) 等; 乙醚相中主要包含的物质为: 丁基化羟基甲苯 (17.52%)、棕榈酸 (15.26%)、2,4-二叔丁基苯酚 (10.08%) 等; 乙酸乙酯相中相对含量较多

的物质分别是: 5-羟甲基糠醛 (23.8%)、邻苯二甲酸二甲酯 (13.0%)、棕榈酸 (9.31%)、二甲基硅烷二醇 (8.1%)、醋酸 (7.07%)、反式角鲨烯 (6.26%)、甲基二乙氧基异丙氧基硅烷 (6.12%) 等。

3 结论与讨论

3.1 讨论

种子休眠指的是具有生活力的种子在适宜的萌发的环境条件下仍不能正常萌发的一种生理状态^[11-12]。导致种子产生休眠的原因有很多, 其中又分为外源性休眠, 内源性休眠及形态生理综合性休眠 3 类。施守涛等^[13]研究发现导致地不容 (*Stephania epigaea*) 种子休眠的主要因素是种皮障碍, 通过划破种皮、摩擦处理等方式可以显著提高其萌发率。尹德洁等^[14]研究发现单叶蔓荆 (*Vitex rotundifolia*) 种子的休眠不仅是由于种皮的透水障碍, 更重要的是种皮当中含有萌发抑制

物。朱铭玮等^[15]发现丹凤(*Paeonia suffruticosa*)种子中所含的酚类、有机酸类及酰胺类等内源抑制物是导致种子生理休眠的主要原因。与本研究相似,通过朴树种子各分离相的结果表明,朴树种子中存在较多有机酸类、醛类、酚类和苯类内源抑制物,可能是导致种子休眠的原因之一。

史锋厚等^[16]发现南京椴(*Tilia miqueliana*)种子中存在抑制物,种子中抑制物主要存在甲醇相。贾鑫等^[17]、袁秋萍等^[18]和于海莲等^[19]分别发现芍药(*Paeonia lactiflora*)、多花芍药(*Paeonia emodi*)和南方红豆杉(*Taxus chinensis*)种子中种胚抑制物活性较强。王娟等^[20]发现蒜头果(*Malana oleifera*)种子存在生理后熟现象,丁俊峰等^[21]进一步研究发现蒜头果果实中含有抑制物,且抑制物活性表现为种皮>胚乳。王芳等^[22]研究发现梭梭树(*Haloxylon ammodendron*)枝条中含有抑制物,且随着浸提时间越长抑制作用越明显。本研究通过不同部位的朴树种子甲醇浸提液对白菜种子的发芽试验,发现浸提液当中的确有抑制白菜种子发芽的物质,随着浸提液浓度的增大其抑制效果也逐渐明显,与前人的研究结果基本相同^[23-25],且抑制物活性较强的部位为种胚。研究结果表明朴树发芽抑制物主要存在于乙醚相和乙酸乙酯相中;甲醇相中种壳的抑制程度较种胚大;石油醚相种胚的抑制程度较种壳大。因此朴树种子乙醚相和乙酸乙酯相中检测到的抑制物可能与其休眠有密切联系。各分离相浸提液对白菜种子根长的抑制作用由大到小分别为乙酸乙酯相>乙醚相>甲醇相>石油醚相;对白菜种子苗高的抑制作用由大到小依次为乙醚相、乙酸乙酯相>甲醇相>石油醚相。对比根、苗长度的抑制程度而言,不同部位浸提液都表现对根生长的抑制性更强,说明朴树种子中的抑制物对幼苗地下部分的抑制程度更强一些,这与于金田等^[26]的研究结果相一致。石油醚相的发芽抑制率相对较弱且对白菜幼苗根、茎的生长略有促进作用,这与前人的研究结果不太一致。但金攀等^[27]研究一年蓬(*Erigeron annuus*)发现石油醚浸提液在低浓度时对白菜幼苗的生长具有一定的促进作用,推测可能是由于朴树种子石油醚相浸提液中含有相对较多的烷类物质,而烷类物质能够增加植物体内的多酚氧化酶活性,进而达到了促进植物的生长的效果。

气相色谱质谱连用法常被用于检测种子内源抑制物的相对含量及种类。王浩宇等^[28]发现邻苯三酚可能是导致加拿大紫荆(*Cercis canadensis*)

种子休眠的主要抑制物质。李立君等^[29]发现邻苯二酚、棕榈酸是导致乌桕(*Triadica sebifera*)种子休眠的主要物质。本研究中根据GC-MS鉴定结果,发现分离相中相对含量较大的主要为有机酸类、醛类、酚类和苯类物质,这与邹雨婷等^[30]研究绿山楂(*Crataegus viridis*)内源物质的结论基本一致。

李强等^[31]已证实棕榈酸等物质会导致‘丹凤’种子发芽受到抑制。醋酸、棕榈酸、亚油酸等有机酸混合在一起的综合反应,会起到更强的抑制作用^[32]。乙酸乙酯和乙醚浸提液各部位(种壳和种胚)中都检测到了相对含量较高的棕榈酸,分别为23.91%、9.31%、8.20%、15.26%。此外,乙酸乙酯种壳和种胚中都检测到相对含量较高的醋酸,分别为23.26%和9.31%。乙酸乙酯相和乙醚相是本次试验抑制作用最强的两个有机相,醋酸和棕榈酸可能是导致白菜种子发芽被抑制的重要原因。

李展鹏等^[33]发现浓度为5 mg/L的邻苯二甲酸二甲酯进入美人蕉(*Canna indica*)的第5天就会使其枯萎死亡。吴易等^[34]发现棕榈酸甲酯对玉米(*Zea mays*)种子、黄豆(*Glycine max*)种子存在抑制作用,浓度为1000 mg/L时对水稻(*Oryza sativa*)种子也会产生抑制作用。本次试验检测到各部位乙酸乙酯浸提液中都含有邻苯二甲酸二甲酯,其中种壳1.75%,种胚13.00%。种壳的甲醇相、石油醚相,种胚的乙醚相都分别检测到相对含量不同的棕榈酸甲酯,分别为1.88%、1.47%和3.70%。上述酯类物质在此次检测结果中相对含量都比较低,因此酯类物质是否会对朴树种子休眠产生影响还需要进一步的研究。

GC-MS检测结果表明,种胚的甲醇浸提液、各部位的乙醚浸提液和种壳的石油醚浸提液中分别检测到了4.38%、4.08%(种壳)、10.08%(种胚)、8.52%的2,4-二叔丁基苯酚,该物质被证实高浓度(>0.5 mmol/L)情况下会导致抑制细叶小羽藓(*Haplocladium microphyllum*)的生长发育^[35]。结合表2和表3的生物测定结果,发现种壳石油醚相中2,4-二叔丁基苯酚相对含量达到8.52%,但是其生物测定的抑制性并不高,因此该物质是否会对朴树种子休眠产生影响还需要进行深入的研究。此外,在种壳和种胚的乙醚浸提液中都检测出了相对含量较多的丁基化羟基甲苯(分别为19.89%和17.52%),该物质也被证实低浓度(1、2 mg/L)下对雨生红球藻

(*Haematococcus pluvialis*) 生物量的影响不显著, 在高浓度(3 mg/L)会对藻细胞产生明显的毒害作用^[36]。

3.2 结论

朴树种子中存在内源抑制物, 可能是导致朴树种子休眠的原因之一, 这些物质主要是有机酸类、酯类和酚类和苯类。各相浸提液的抑制效果由大到小依次为乙酸乙酯相、乙醚相>甲醇相>石油醚相, 乙酸乙酯相和乙醚相中可能含有主要的影响朴树种子休眠的物质。朴树种子中主要的抑制物为有机酸类物质, 如棕榈酸和醋酸等; 一些酯类物质: 邻苯二甲酸二甲酯; 苯类物质: 丁基化羟基甲苯, 也可能具有抑制作用。在本次被鉴定出的物质中有些已经得到证实会对种子发芽产生抑制作用, 例如棕榈酸、棕榈酸甲酯等; 但还有相当一部分物质是否会导致种子延迟发芽甚至不发芽还有待于进一步地研究。其次由于抑制物成分未知的限制, 试验只能先定性测得抑制物质的成分及相对含量, 因此抑制物中各成分的定量分析以及不同种类的抑制物相互之间是否会对种子休眠产生综合影响有待于进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 姚和金. 城乡绿化的好树种: 朴树 [J]. 江苏绿化, 1997(5): 31-33.
- [2] 林来顺. 皖南山区朴树的特征特性及种子育苗技术 [J]. 现代农业科技, 2018(6): 151, 155.
- [3] Zehrmann N, Zidorn C, Ganzer M. Analysis of rare flavonoid C-glycosides in *Celtis australis* L. by micellar electrokinetic chromatography [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 51(5): 1165-1168.
- [4] Zhang Y W, Qi Z P, Wang W J, et al. Isovitecin inhibits ginkgolic acids-induced inflammation through downregulating SHP2 activation [J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 630320.
- [5] Qi Z P, Fang X Y, Xie Y Y, et al. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory constituents from *Celtis sinensis* leaves [J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(1): e13580.
- [6] 谢清华, 黄红兰. 朴树种子层积储藏处理及其发芽条件的研究 [J]. 南方林业科学, 2018, 46(3): 16-19.
- [7] 刘序. 珊瑚朴种子休眠机理研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2019.
- [8] 吴小娟, 高捍东. 珊瑚朴种子生物学特性研究 [J]. 林业科技开发, 2008, 22(5): 55-57.
- [9] Alvarado V, Bradford K J. Hydrothermal time analysis of seed dormancy in true (botanical) potato seeds [J]. Seed Science Research, 2005, 15(2): 77-88.
- [10] 国家粮食局. 粮油检验 发芽试验: GB/T 5520—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011: 2-3.
- [11] 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.
- [12] Baskin J M, Baskin C C. A classification system for seed dormancy [J]. Seed Science Research, 2004, 14(1): 1-16.
- [13] 施守涛, 李村富, 刘正杰, 等. 地不容种子休眠及其破除方法研究 [J]. 西部林业科学, 2021, 50(6): 117-123.
- [14] 尹德洁, 布凤琴, 徐艳芳, 等. 单叶蔓荆种子休眠特性与解除方法 [J]. 林业科学, 2020, 56(12): 157-165.
- [15] 朱铭玮, 邹雨婷, 李永荣, 等. 油用牡丹‘凤丹’种子内源抑制物研究 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2019, 39(6): 64-70.
- [16] 史锋厚, 沈永宝, 施季森. 南京椴种子发芽抑制物研究 [J]. 福建林学院学报, 2007, 27(3): 222-225.
- [17] 贾鑫, 张美茜, 李颖, 等. 芍药种子萌发抑制物活性研究及抑制物消除方法探究 [J]. 中药材, 2021, 44(11): 2511-2515.
- [18] 袁秋萍, 倪巍, 万映伶, 等. 内源抑制物对多花芍药种子上胚轴休眠的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(9): 109-119.
- [19] 于海莲, 李凤兰, 赵翠格, 等. 南方红豆杉种子发芽抑制物质的初步研究 [J]. 北京林业大学学报, 2009, 31(5): 78-83.
- [20] 王娟, 普甜. 滇东南珍稀古老植物蒜头果种子结构及子叶多样性研究 [J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2023, 43(3): 1-9.
- [21] 丁俊峰, 曹建华, 林建超, 等. 珍稀濒危植物蒜头果果实发芽抑制物研究 [J]. 牡丹江师范学院学报(自然科学版), 2008(2): 1-2.
- [22] 王芳, 谢健, 王泽, 等. 梭梭枝条生根抑制物研究 [J]. 西北农业学报, 2016, 25(1): 136-141.
- [23] 邢露, 李铁华, 何功秀, 等. 紫楠种子的休眠与萌发特性 [J]. 中南林业科技大学学报, 2023, 43(6): 43-50, 78.
- [24] 覃静婷, 覃永华, 刘莉, 等. 观光木种子浸提液内源抑制物活性 [J]. 北华大学学报(自然科学版), 2024, 25(1): 103-108.
- [25] 张艳杰. 南方红豆杉种子休眠机理的研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2007.

- [26] 于金田, 王晶, 伏兵哲, 等. 沙芦草种子发芽抑制物的初步探究 [J]. 草业学报, 2022, 31(5): 92–102.
- [27] 金攀, 杨利民, 韩梅. 一年蓬化感物质的初步分离和生物测定 [J]. 吉林农业大学学报, 2011, 33(1): 36–41, 46.
- [28] 王浩宇, 高云鹏, 朱铭玮, 等. 内源抑制物对加拿大紫荆种子萌发的影响 [J]. 南京林业大学学报 (自然科学版), 2022, 46(5): 104–112.
- [29] 李立君, 赵婷婷, 钱存梦, 等. 内源抑制物对乌桕种子萌发的影响 [J]. 东北林业大学学报, 2022, 50(12): 9–14.
- [30] 邹雨婷, 陈丽, 范秀娟, 等. 绿山楂种子内源抑制物成分的初步鉴定 [J]. 种子, 2018, 37(12): 23–28.
- [31] 李强, 孙海燕, 朱铭玮, 等. ‘凤丹’种子层积过程中内源抑制物含量变化规律 [J]. 经济林研究, 2022, 40(4): 81–89.
- [32] 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.
- [33] 李展鹏, 袁辉洲, 柯水洲, 等. 邻苯二甲酸二甲酯对植物–活性污泥复合系统的影响及其去除研究 [J]. 环境工程, 2022, 40(12): 202–210.
- [34] 吴易, 司春灿, 孙见凡, 等. 南美蟛蜞菊根系分泌物中2种化学物质的化感潜力 [J]. 西北农业学报, 2014, 23(10): 170–178.
- [35] 宋春燕, 王琪, 单壹壹, 等. 2,4-二叔丁基苯酚对细叶小羽藓生理的影响 [J]. 上海师范大学学报 (自然科学版), 2022, 51(6): 742–749.
- [36] 岳陈陈, 余旭亚, 赵永腾, 等. 二丁基羟基甲苯对雨生红球藻虾青素和油脂积累的影响 [J]. 渔业科学进展, 2019, 40(6): 145–153.

(责任编辑 冯雪)