

# 四川牡丹种子浸提液内源抑制物活性初探

宋会兴, 刘光立, 高素萍, 陈其兵\*

(四川农业大学风景园林学院, 成都 611130)

**摘 要:** 通过研究四川牡丹 (*Paeonia decomposita* Hand.-Mazz.) 种皮、胚乳水浸提物对白菜种子萌发、幼苗生长及保护酶活性的影响, 探讨四川牡丹种子内源抑制物质的活性。结果发现, 四川牡丹种皮、胚乳中含有抑制白菜种子萌发及幼苗生长的物质, 随着该物质浓度的增加, 抑制作用更为显著; 相同浓度的胚乳浸提液对白菜种子萌发及幼苗生长的抑制作用显著高于种皮浸提液。胚乳浸提液能够直接抑制白菜幼苗过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 活性, 间接影响超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。结果表明: 四川牡丹种子内源抑制物质的存在, 可能是四川牡丹种子休眠的重要原因; 四川牡丹种子浸提物可能通过影响保护酶的活性进而影响白菜幼苗的正常生长。

**关键词:** 四川牡丹; 休眠; 白菜; 保护酶; 抑制作用

**中图分类号:** S 685.11

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 02-0370-05

## Effects of Crude Extracts of *Paeonia decomposita* Seeds on Germination and Activities of Antioxidant Enzyme of *Brassica pekinensis*

SONG Hui-xing, LIU Guang-li, GAO Su-ping, and CHEN Qi-bing\*

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

**Abstract:** The effects of water crude extracts of the seed coat and endosperm of *Paeonia decomposita* on the seed germination, seedling growth and antioxidant enzymes of *Brassica pekinensis* were examined to understand the cause of seed dormancy of *P. decomposita* Hand.-Mazz. The results showed that the seed, especially the endosperm tissue of *P. decomposita*, contained substances that strongly suppressed seed germination. The crude extract of endosperm of *P. decomposita*, which significantly reduced the activities of catalase and peroxidase, and indirectly affected the activity of superoxide dismutase, showed a more significant inhibition than that of seed coat at the same dose. It was concluded that the presence of inhibitory substances is one of important causes of seed dormancy in *P. decomposita*.

**Key words:** *Paeonia decomposita* Hand.-Mazz.; dormancy; *Brassica pekinensis*; protective enzyme; inhibiting effect

四川牡丹 (*Paeonia decomposita* Hand.-Mazz.) 是中国特有的芍药科芍药属落叶小灌木 (洪德元和潘开玉, 1999), 分布于四川西北部的马尔康、金川、丹巴、康定等地, 花大而美丽, 是一种理想的栽培牡丹育种原始材料。然而, 其种子正常萌发需要经过 6 个月以上的低温, 因此自然状态下

收稿日期: 2011-10-25; 修回日期: 2012-01-03

基金项目: 国家农业科技成果转化资金项目 (2011GB2F000016); 四川省教育厅资助项目 (2006A005)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: cqbsicau.edu.cn)

幼苗和种群数量非常稀少 (Jing & Zheng, 1999)。长期以来由于人为的破坏, 致使四川牡丹处于濒临灭绝的状态, 已被列入国家重点保护珍稀濒危植物 (傅立国和金鉴明, 1992)。

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 (卡恩, 1989)。上胚轴休眠通常被认为是芍药属 (*Peony* L.) 种子休眠的重要原因 (Buchheim et al., 1994; Jing & Zheng, 1999), 但机理尚不清楚。紫斑牡丹 (*P. rockii*) 种子中含有的一些化学物质影响种子的后熟和发芽, 对胚根和子叶的生长具有一定的抑制作用 (周仁超 等, 2002)。本试验中对四川牡丹种子内源抑制物质活性及其对白菜幼苗保护酶活性的影响进行初步研究, 以期为进一步研究四川牡丹种子休眠机制提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试四川牡丹种子于 2009 年 9 月采自四川省金川县庆宁乡, 在 4 °C 低温储藏备用。生物活性测定采用市售白菜 (*Brassica pekinensis*) 种子。试验在四川农业大学成都校区完成。

### 1.2 种子浸提液的制备

选取饱满的四川牡丹种子, 分别取种皮和胚乳在 40 °C 条件下烘干至恒重后粉碎。各称取 10.0 g 分别置 100 mL 三角瓶中, 加入 80 mL 去离子水, 用 3 层塑料薄膜封口, 置于 20 °C 培养箱内浸提 24 h。将浸提液收集到离心管内, 4 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液定容至 100 mL, 即得 0.1 g · mL<sup>-1</sup> 的粗提液, 4 °C 条件下保存备用。

### 1.3 种子内源抑制物质活性测定

将上述粗提液用去离子水配制成浓度为 0、0.025、0.05、0.075 和 0.1 g · mL<sup>-1</sup> 的培养液。参考吴啸业 (1985) 的生物活性测定方法, 吸取不同浓度的培养液各 7 mL 分别加入铺有 2 层滤纸的 9 cm 培养皿内。每皿放置 50 粒白菜种子, 置 25 °C 光照培养箱内, 以胚根突破种皮为发芽标志, 观察白菜种子萌发及幼根生长情况。于培养 24 h 统计发芽率, 48 h 测定胚根长度, 72 h 测定下胚轴长度。

### 1.4 白菜幼苗保护酶活性的测定

用去离子水将胚乳粗提液配制成终浓度依次为 0、0.01、0.02、0.04 和 0.08 g · mL<sup>-1</sup> 的培养液。按 1.3 中的方法将白菜种子在不同浓度的培养液中培养, 在培养 24、48 和 72 h 时参照 Chance 和 Maehly (1955)、Stewart 和 Bewley (1980) 和 Aebi (1983) 的方法分别测定白菜幼苗超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性。

数据采用 Excel 软件和 SPSS 11.5 数据处理系统进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 四川牡丹种子浸提液对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

由图 1 可见, 不添加浸提液的白菜种子发芽率最高, 添加种皮浸提液后, 白菜种子发芽率呈下降趋势, 但各处理间差异不显著; 添加胚乳浸提液之后, 白菜种子的发芽率显著降低, 并且随着胚乳浸提液浓度的增加抑制作用更为明显。相比种皮, 相同浓度条件下的胚乳浸提液对白菜种子萌发

的抑制作用更为显著。加入四川牡丹种皮浸提液后,白菜幼苗胚根、下胚轴长度显著降低,并随浸提物浓度的升高更为明显;在相同浓度条件下,胚乳浸提物对白菜幼苗生长的影响显著高于种皮提取物。当胚乳浸提物浓度为 0.05、0.075 和 0.1  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时,白菜幼苗根部褐化,不能正常生长,因此没有对下胚轴长度的测量结果。

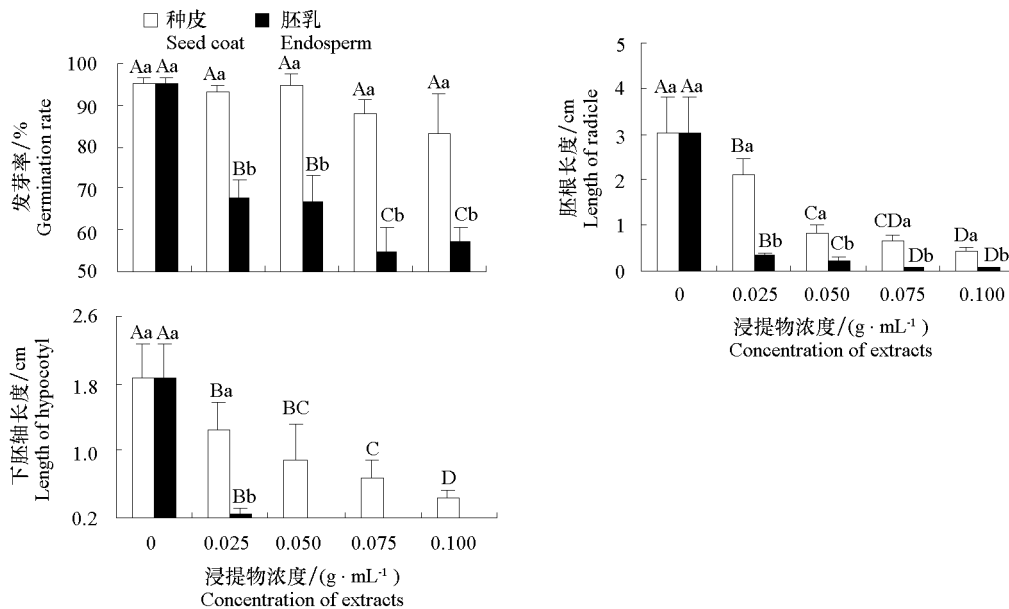


图 1 四川牡丹种子浸提液对白菜种子萌发及幼苗生长的影响

不同大写字母表示相同物质不同浓度处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

不同小写字母表示相同浓度不同物质处理间差异显著。下同。

Fig. 1 Effects of crude extracts of *Paeonia decomposita* seeds on germination and seedling growth of *Brassica pekinensis*

The different capital and lowercase letters indicate significant difference ( $P < 0.05$ ) among different concentrations with same substance, and of different substances treatments at same concentration, respectively. The same below.

## 2.2 四川牡丹胚乳浸提液对白菜幼苗保护酶活性的影响

由图 2 可知,随着浸提物浓度的升高,白菜幼苗 SOD 活性表现为先升高后降低的趋势,在浸

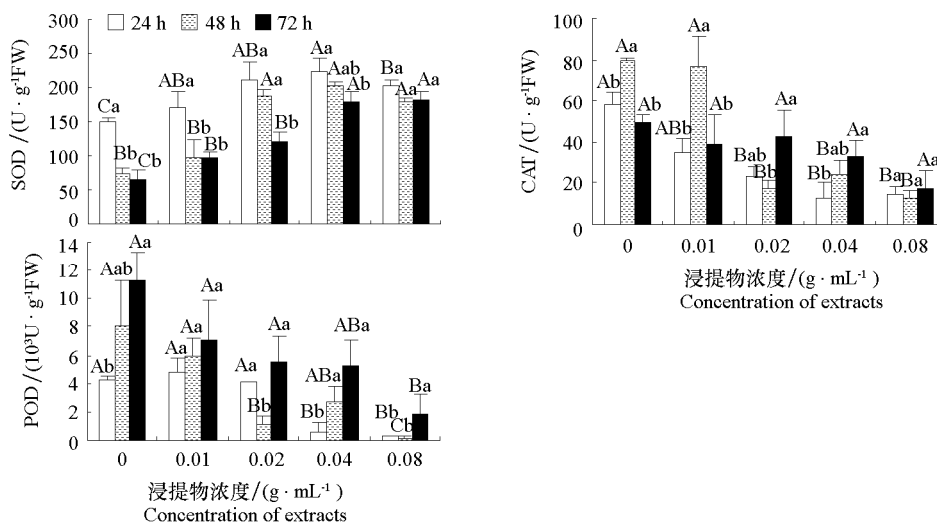


图 2 四川牡丹种子浸提液对白菜幼苗保护酶活性的影响

Fig. 2 Effects of crude extracts of *Paeonia decomposita* seeds on activities of antioxidant enzyme of *Brassica pekinensis*

提物浓度为  $0.04 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时活性最高, 在  $0.08 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时活性又降低。处理 72 h 内 SOD 活性变化趋势是一致的。

白菜幼苗 CAT、POD 活性表现出与 SOD 活性不同的变化趋势。在不同的测定时间内, CAT 活性与 POD 活性均随着浸提物浓度的升高而显著降低, 在  $0.08 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时酶活性降至最低。

### 3 讨论

逆境因子对植物的伤害大多与植物体内活性氧代谢失调有关。Roshchina 和 Roshchina (1993) 对高等作物 (如大豆、小麦、生菜、莴苣等) 的化感作用研究指出, 多酚类化合物能够抑制受体植物 SOD 和 CAT 酶活性, 导致受体植物体内活性氧增多, 造成膜脂过氧化, 从而破坏膜的结构。覃逸明等 (2009) 在连续种植 4 年的栽培牡丹凤丹 (*P. ostii* T.) 根际发现至少 5 种以上的酚酸类物质 (阿魏酸、肉桂酸、香草醛、香豆素和丹皮酚)。因此, 尽管四川牡丹胚乳浸提液中的成分尚不明确, 但可以推测四川牡丹种子胚乳浸提液中可能含有多酚类化合物, 影响了受体白菜幼苗中保护酶的活性。

本研究中, 白菜幼苗 CAT 活性和 POD 活性随胚乳浸提物浓度的增加而降低, 表明胚乳浸提物能够抑制白菜幼苗 CAT 和 POD 酶活性, 这与 Roshchina 和 Roshchina (1993) 的研究结果是一致的, 不同的是, SOD 活性随胚乳浸提物浓度的增加表现为先升高后降低, 表明胚乳浸提物并没有直接抑制白菜幼苗 SOD 酶活性。可能由于胚乳浸提物抑制了 CAT 和 POD 酶活性, 导致植物体内活性氧增多, 植物启动应激机制, 进而使得 SOD 酶活性增加 (Scandalios, 1993)。同时, 随着活性氧在体内的累积, 植物受害逐渐加重, 又会使得 SOD 酶活性随之失活 (Politycka, 1996; Shalata & Tal, 1998; Deltoro et al., 1999)。

研究同时表明, 四川牡丹种子浸提液对白菜种子萌发及幼苗生长均有明显的抑制作用, 并且这种抑制作用随着浸提液浓度的增加而增强。尤其是与幼胚紧密相连的胚乳的浸提液, 不仅抑制了白菜种子的萌发, 更显著抑制了胚根的生长及胚轴的伸长 (图 1)。

种子是四川牡丹唯一的繁殖途径 (成仿云 等, 1997)。在长期的系统演化过程中, 四川牡丹种子形成了特殊的休眠萌发特性, 表现为需经过 4 个月  $0 \sim 10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  的低温沙藏后, 种子才能够萌发 (Jing & Zheng, 1999), 并且长出胚根的种子还具有严格的上胚轴休眠, 这是导致四川牡丹出苗率低及自然状态下幼苗和种群稀少的重要原因 (冯正波, 2002)。本研究结果表明, 四川牡丹种子内存在抑制种子萌发及幼苗生长的物质, 在胚乳组织内含有可以影响幼苗 CAT、POD、SOD 酶活性的物质, 这可能也是四川牡丹种子休眠的重要原因, 抑制物质的性质及其抑制四川牡丹种子萌发的详细机理尚需要进一步的研究。

### References

- Aebi H. 1983. Catalase // Bergmeyer H U. Methods of enzymatic analysis. 3rd edn. Weinheim: Verlag Chemie, 3: 273 - 282.
- Buchheim J A T, Burkhart L F, Meyer M M. 1994. Effect of exogenous gibberellic acid, abscisic acid and benzylaminopurine on epicotyl dormancy of cultured herbaceous peony embryos. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 36: 35 - 43.
- Chance B, Maehly A C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 2: 746 - 755.
- Cheng Fang-yun, Li Jia-jue, Chen De-zhong. 1997. The natural propagation characteristics of wild tree peony species in China. Acta Horticulturae Sinica, 24 (2): 180 - 184. (in Chinese)
- 成仿云, 李嘉珏, 陈德忠. 1997. 中国野生牡丹自然繁殖特性研究. 园艺学报, 24 (2): 180 - 184.
- Deltoro V I, Gimeno C, Calatayud A, Barreno E. 1999. Effects of  $\text{SO}_2$  fumigations on photosynthetic  $\text{CO}_2$  gas exchange, chlorophyll a fluorescence

- emission and antioxidant enzymes in lichens *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea*. *Plant Physiology*, 105: 648 – 654.
- Feng Zheng-bo. 2002. Seed propagation of *Paeonia decomposita*. *Journal of Plant*, (2): 37. (in Chinese)
- 冯正波. 2002. 四川牡丹种子育苗. *植物杂志*, (2): 37.
- Fu Li-guo, Jin Jian-ming. 1992. China plant red data book: Rare and endangered plants. Beijing: Science Press: 530 – 537. (in Chinese)
- 傅立国, 金鉴明. 1992. 中国植物红皮书——珍稀濒危植物. 北京: 科学出版社: 520 – 537.
- Hong De-yuan, Pan Kai-yu. 1999. Taxonomical history and revision of *Paeonia* Sect. Moutan (Paeoniaceae). *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 37 (4): 351 – 368. (in Chinese)
- 洪德元, 潘开玉. 1999. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理. *植物分类学报*, 37 (4): 351 – 368.
- Jing X M, Zheng G H. 1999. The characteristics in seed germination and dormancy of four wild species of tree peonies and their bearing on endangerment. *Acta Phytophysiological Sinica*, 25 (3): 214 – 221.
- Kaen A A. 1989. Physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Beijing: China Agriculture Press: 37 – 40. (in Chinese)
- 卡恩 A A. 1989. 种子休眠和萌发的生理生化. 北京: 中国农业出版社: 37 – 40.
- Politycka B. 1996. Peroxidase activity and lipid peroxidation in roots of cucumber seedlings influenced by derivatives of cinnamic and benzoic acids. *Acta Physiologiae Plantarum*, 18: 365 – 370.
- Qin Yi-ming, Nie Liu-wang, Huang Yu-qing, Wang Qian, Liu Xin, Zhou Ke. 2009. Detection of *Paeonia ostii* autotoxins and their mechanism. *Acta Ecologica Sinica*, 29 (3): 1153 – 1161. (in Chinese)
- 覃逸明, 聂刘旺, 黄雨清, 王 千, 刘 欣, 周 科. 2009. 凤丹自毒物质的检测及其作用机制. *生态学报*, 29 (3): 1153 – 1161.
- Roshchina V V, Roshchina V D. 1993. The excretory function of higher plant. New York: Springer: 213 – 215.
- Scandalios L G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, 101: 7 – 12.
- Shalata A, Tal M. 1998. The effects of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. *Plant Physiology*, 104: 169 – 174.
- Stewart R C, Bewley J D. 1980. Lipid peroxidation associated with aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65: 245 – 248.
- Wu Xiao-ye. 1985. Germination inhibitors in seeds of *Taxus chinensis* var. *Mairei*. *Plant Physiology Communications*, (4): 23 – 26. (in Chinese)
- 吴啸业. 1985. 红豆杉种子抑制物质的初步研究. *植物生理学通讯*, (4): 23 – 26.
- Zhou Ren-chao, Yao Chong-huai, Pan Jun, Yin Li-yan. 2002. Studies on characteristics of dormancy and germination of *Paeonia rockii*. *Hubei Agricultural Sciences*, (1): 59 – 60. (in Chinese)
- 周仁超, 姚崇怀, 潘 俊, 尹黎燕. 2002. 紫斑牡丹种子休眠和萌发特性初步研究. *湖北农业科学*, (1): 59 – 60.

## 征 订

# 《中国蔬菜品种志》

本书由中国农业科学院蔬菜花卉研究所主编, 已于 2002 年 9 月出版发行。全书分上、下卷, 1 ~ 6 章为上卷, 包括根菜类、白菜类、芥菜类、甘蓝类、绿叶菜类及葱蒜类, 计 2 263 个品种, 1 347 页; 7 ~ 12 章为下卷, 包括瓜类、茄果类、豆类、薯芋类、水生蔬菜类和多年生蔬菜类, 计 2 550 个品种, 1 177 页。入志的品种中, 地方品种占 90% 以上, 少量在全国栽培时间较长、种植面积较大的一代杂种也选入其中。本书较全面系统而又有重点地反映了中国丰富的蔬菜品种资源概貌、研究成果及育种水平, 可供蔬菜科研、教学、生产及种子公司、农业行政单位的人员参考。本书出版后受到读者普遍好评, 现尚有少量存书, 特以优惠价格 490 元 (上、下卷) 提供给读者 (原价 980 元)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。