

膜荚黄芪种子萌发抑制物质特性的初步研究

赵敏¹, 王炎^{2*}

(1. 东北林业大学森林资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150040 2 哈尔滨工业大学 应用化学系, 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 目的 通过对膜荚黄芪种子萌发抑制物质的研究, 探讨黄芪种子发芽率低的原因。方法 制备黄芪种子粗提物, 并测定其活性; 制备黄芪种子的乙醚提取液并进行纸层析, 然后测定各区段的活性; 用温水 (41℃, 45℃) 浸种, 测定不同时间的浸泡液的抑制活性。结果 证明黄芪种子中存在活性较高的内源抑制物质, 且其乙醚提取物纸层析在 Rf 0.9 区段对白菜种子萌发有最强抑制, Rf 1.0 区段对白菜幼根生长有最强抑制; 通过温水浸种 (41℃, 45℃) 可除去大部分内源抑制物质; 黄芪种子的内源抑制物质对小麦幼苗地上部分和地下部分生长均有显著抑制活性, 对小麦种子萌发则不表现抑制; 黄芪种子乙醚提取物对黄芪种子萌发和幼根生长也有较强抑制活性; 结论 黄芪种子发芽率低的原因, 除种皮透水性差外, 还有内源抑制物质作用的结果。

关键词: 黄芪种子; 内源抑制物质; 纸层析; Rf 值; 温水浸种

中图分类号: R282.21 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)07-0643-04

Elementary studies on intrinsic inhibitor that retards germination of seed of *Astragalus membranaceus*

ZHAO Min¹, WANG Yan²

(1. College of Forest Resource and Environment, Northeast University of Forestry, Harbin Heilongjiang 150040, China; 2. Department of Applied Chemistry, Harbin University of Industry, Harbin Heilongjiang 150001, China)

Abstract **Object** An attempt to seek after an intrinsic inhibitor present in the seed of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.. **Methods** Crude ethereal extract of the seed was prepared and treated on paper chromatography. Inhibitory effects of different fractions with different Rf value were tested on *Brassica chinensis* L. and wheat germination. Effect of steeping the seed in warm water at 41℃ or 45℃ for different periods of time was also studied. **Results** Seed of *A. membranaceus* does contain strong intrinsic inhibitor. The portion of its ethereal extract with Rf 0.9 showed the most strong inhibition for the germination of *Brassica*, and the fraction with Rf 1.0 can inhibit the growth of the tender *Brassica* root, steeping with warm water can remove most of the intrinsic inhibitor, which also inhibits the growth of both aerial and underground parts of wheat sprouts, but without effect on its seed germination. It also showed strong inhibition of seed germination and growth of tender root of *A. membranaceus*. **Conclusion** Besides the low water permeability of the seed peel, the intrinsic inhibitor present in *A. membranaceus* is another essential factor that retard its germination.

Key words seed of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.; intrinsic inhibitor; paper chromatography; Rf value; steeping seed in warm water

膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 系豆科植物, 以根入药。膜荚黄芪与蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 的干燥根统称黄芪(黄耆), 为我国著名的常用滋补中药材。黄芪有补气固表、止汗、托毒生肌、利尿消肿之功效, 药性平和, 故称之为“补气固表之圣药”。被广泛应用于临床配方,

以黄芪为原料的中成药达 200 多种, 如十全大补丸、消渴丸等。同时黄芪也是我国大宗出口的商品。

膜荚黄芪(下称黄芪)人工栽培的历史较长, 面积也较大, 一般认为黄芪种子发芽率低的主要原因是种皮透水性差, 即种子的“硬实现象”, 硬实率大小与种子的成熟度(采收期)有关, 故在栽培生产中对种子采收期有严格要求, 即在绿色嫩荚果期采收种

* 收稿日期: 2000-09-22

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (C00-33)

作者简介: 赵敏 (1964-), 男, 黑龙江省富锦县人, 副教授, 硕士 (在读博士生)。1986 年毕业于东北农学院植物保护专业, 获学士学位; 1988 年毕业于山东农业大学植物生理生化专业获硕士学位; 先后工作于黑龙江省医药工业研究所和东北林业大学。主要研究方向: 1) 污染物的微生物降解技术; 2) 药用植物种子休眠生理学。Tel 0451-2122126

子,在播种时,采用粗沙或磨末机轻度磨擦种皮,或将种子置于 50℃温水中浸泡 6~ 12 h^[1],捞出后装入布袋内催芽,且每隔几小时用清水投洗一次,通过以上方法处理种子,可大幅度提高种子发芽率。本文通过对黄芪种子萌发抑制物质研究,揭示了导致黄芪种子发芽率低的又一根本原因,为生产上采用的温水浸种等种子处理措施提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料:供试黄芪种子系 1998年 11月份从黑龙江省野生药材资源保护站购得的当年采收的种子。

1.2 实验方法

1.2.1 抑制物质粗提物制备和活性测定参考赵敏的方法^[2]:称取黄芪种子 20 g加入研钵中研碎,并加入 10倍体积水,置于 56℃条件下,浸提 24 h,过滤,残渣再浸提 2次,合并 3次浸提液,56℃条件下浓缩成 100 mL,换算成每毫升粗提液相当于黄芪种子材料重量数,即为 0.20 g/mL,用白菜种子进行生物测定。

1.2.2 粗提物对小麦种子萌发及幼苗生长影响测定参考吴啸业的方法^[3]。

1.2.3 黄芪种子乙醚提取液制备和萃取残余液的纸层析及各区段活性测定参考赵敏的方法^[4,5]。

1.2.4 温水浸种去除抑制物质的研究参考赵敏的方法^[4]。

2 结果与分析

2.1 黄芪种子粗提物的抑制活性:设置黄芪种子粗提物的浓度系列为:0.02, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 g/mL,分别测定不同浓度粗提物对白菜种子萌发及幼根生长的抑制活性,白菜种子在 28℃黑暗条件下培养,24 h测定发芽率,48 h测定幼根长度,试验重复 3次,结果如图 1、2。

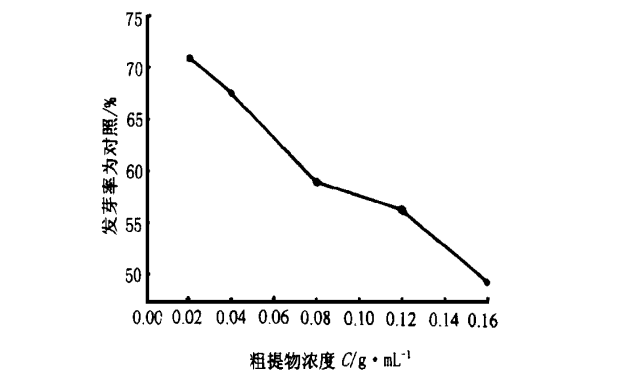


图 1 黄芪种子粗提物对白菜种子萌发的抑制活性

结果表明:黄芪种子中存在着活性较高的内源

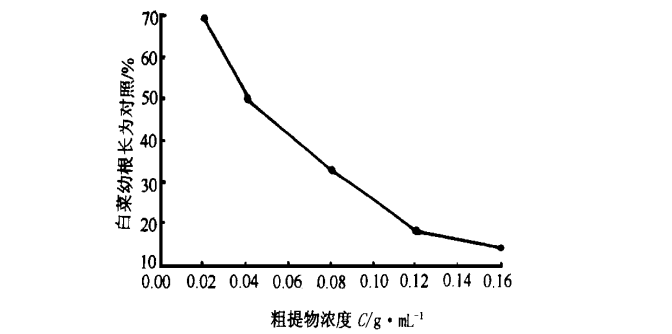


图 2 黄芪种子粗提物对白菜幼根生长的抑制活性

抑制物质,抑制活性随着粗提物浓度增大而增强,且内源抑制物质对白菜根生长的抑制活性高于对白菜种子萌发的抑制活性。

2.2 粗提物对小麦种子萌发及幼苗生长的影响:设置粗提物浓度系列为 0.04, 0.08, 0.12 g/mL,每个培养皿内加入适量粗提物和水,保持每皿内液体总量为 6 mL,再放入饱满均匀小麦种子 25粒,每处理重复 3次。结果见表 1。

表 1 黄芪种子粗提物对小麦种子萌发及幼苗生长的影响 (%)

抑制类别	粗提物浓度 (g/mL)		
	0.04	0.08	0.12
发芽率为对照	108.21	106.57	114.77
地上部分长为对照	73.02	48.40	36.78
地下部分长为对照	46.70	18.38	13.90

结果表明:黄芪种子粗提物对小麦种子萌发没有抑制作用,甚至稍有促进作用;但对小麦幼苗的地上部分和地下部分生长有较强抑制作用,尤以对地下部分(幼根)生长抑制活性最强,当粗提物浓度为 0.12 g/mL时,对小麦地下部分生长抑制达到 86.10% (1- 13.9%);且随着粗提物浓度的增大对小麦幼苗的地上部分和地下部分生长的抑制活性显著增强。

2.3 黄芪种子乙醚提取液和萃取残余液纸层析各区段的抑制活性:取黄芪种子的粗提液 100 mL加入等体积乙醚萃取 1次(室温下放置 24 h),残液再用同体积乙醚萃取 2次,合并 3次萃取液浓缩成一定体积并定容至 100 mL,然后进行纸层析,层析后分段进行生物测定,结果见图 3、4;将乙醚萃取后的残余液再定容至 100 mL,然后用同样的方法进行纸层析并分段进行生物测定,结果见图 5、6。

结果表明:黄芪种子的乙醚提取液纸层析在 Rf值 0.9区段对白菜种子萌发抑制活性最强,在 Rf值 1.0区段对白菜幼根生长抑制活性最强;黄芪种子

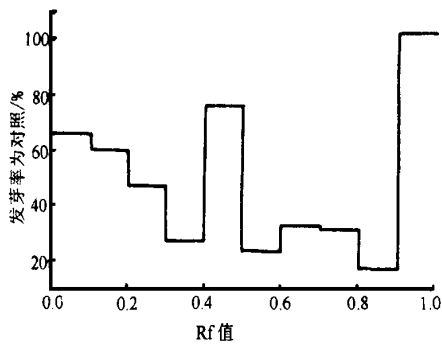


图 3 黄芪种子乙醚提取物纸层析各区段对白菜种子萌发的抑制活性

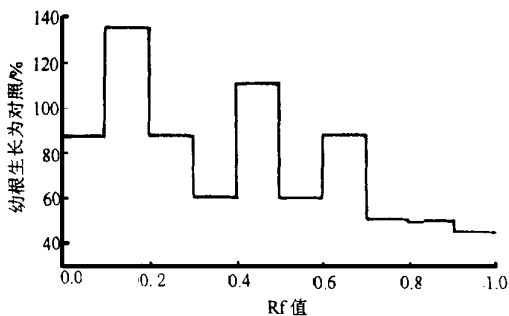


图 4 黄芪种子乙醚提取物纸层析各区段对白菜幼根生长的抑制活性

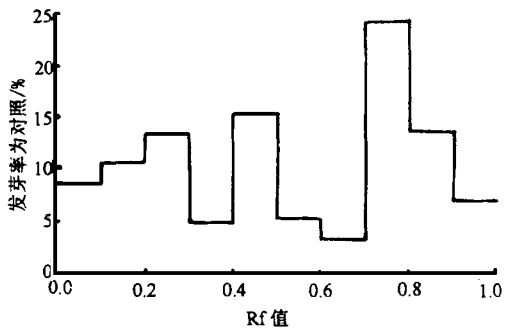


图 5 黄芪种子乙醚萃取残余液纸层析各区段对白菜种子萌发的抑制活性

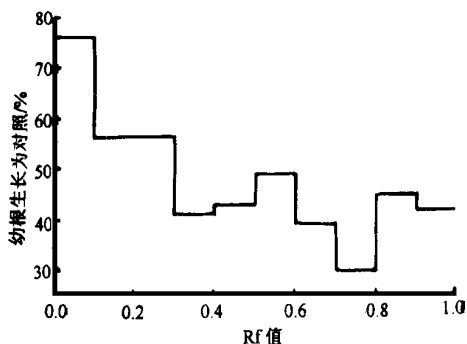


图 6 黄芪种子乙醚萃取残余液纸层析各区段对白菜幼根生长的抑制活性

乙醚萃取残余液在 Rf 值 0.4 和 0.7 区段对白菜种

子萌发抑制活性最强,在 Rf 值 0.8 区段对白菜幼根生长抑制活性最强。黄芪种子粗提物乙醚提取液和乙醚萃取残余液对白菜种子萌发和幼根生长都有抑制活性,由此推测黄芪种子中可能存在着两大类内源抑制物质,一类水溶性较强,另一类则易溶于乙醚等非极性溶剂。比较图 3 和图 5 及图 4 和图 6 折线上面积的大小,(按 Y 轴上刻度单位相同且到直线 $Y=100$ 为界计算面积)可知黄芪种子粗提物的乙醚提取液对白菜种子萌发和幼根生长的抑制活性低于乙醚萃取残余液的抑制活性。

2.4 黄芪种子乙醚提取液对黄芪种子萌发的影响: 设置黄芪种子乙醚提取液浓度系列为 0.067, 0.133, 0.200 g/mL, 分别加入 90 mm 带有滤纸的培养皿中,待乙醚挥发后,在每个培养皿中加入 6 mL 蒸馏水。将黄芪种子在室温下催芽 30 h 后,挑取吸胀种子放入上述含各浓度乙醚提取液的培养皿中,每皿放 20 粒,7 d 后测定发芽率和幼根长度,设仅加 6 mL 蒸馏水的培养皿为对照,试验重复 3 次,结果见表 2。

表 2 黄芪种子乙醚提取液对黄芪种子萌发的影响

浓度 (g/mL)	0.067	0.133	0.200
发芽率为对照 (%)	89.29	49.89	71.31
幼根生长为对照 (%)	86.77	69.05	39.02

黄芪种子乙醚提取液对黄芪种子萌发及幼根生长有明显抑制作用;对幼根生长的抑制作用随浓度增大而增强。这一结果表明黄芪种子内源抑制物质在较低浓度(相当于干种子重量数)下能够抑制黄芪种子萌发和幼苗生长,所以生产上处理黄芪种子用 50℃ 温水浸种促进发芽,不仅只是软化种皮解决种子硬实问题,更重要的是通过温水浸种可除去部分内源抑制物质以促进种子萌发。

2.5 温水浸种去抑制物质的研究: 各取 5 g 干燥的黄芪种子分别放于 50 mL 三角瓶中,注入 20 mL 蒸馏水,瓶口用塑料薄膜封严,在 41℃, 45℃ 条件下,放置 24 h,抽取浸泡液 6 mL,倒出余下残液再注入 20 mL 蒸馏水封严继续浸提,将抽取的 6 mL 浸泡液注入 90 mm 培养皿内,每处理重复 3 次,用白菜种子进行生测,结果见表 3。

结果表明: 41℃, 45℃ 温水浸种可除去大量内源抑制物质,且浸泡液对白菜幼根生长的抑制活性高于对白菜种子萌发的抑制;随着浸泡时间的延长,浸泡液抑制活性总趋势呈逐渐降低的趋势。第 1 天的浸泡液抑制活性最强,第 5, 6, 7 天浸泡液抑制活性最低。温水浸种可除去黄芪种子大部分内源抑制

表 3 温水浸种浸泡液对白菜种子萌发的影响 (%)

温度	抑制类别	种子浸泡批次 (d)						
		1	2	3	4	5	6	7
41℃	发芽率为对照	7. 07	27. 27	40. 91	50. 51	122. 22	79. 80	90. 91
	幼根长为对照	0. 00	9. 78	17. 23	31. 20	109. 28	92. 99	88. 89
45℃	发芽率为对照	0. 00	7. 07	45. 43	61. 62	86. 87	81. 82	88. 89
	幼根长为对照	0. 00	11. 38	33. 32	61. 33	82. 29	78. 43	77. 23

质,这明确解释了黄芪生产中在播种前先用 50℃温水浸种然后装入布袋中催芽,且每天投洗数次能够促进种子萌发和提高发芽率的原因

3 讨论

结合文献报道和本研究可以认为,黄芪种子发芽率低是由两方面原因引起的: 1)种皮障碍,种子可因采收期不同,硬实程度和硬实率不同,播种后影响种子吸水,导致一些种子不能萌发; 2)种子中存在着活性较高的内源抑制物质,影响种子发芽率。但各自对黄芪种子萌发影响究竟有多大作用,有待于进一步研究。黄芪种子采收期与黄芪种子发芽率相关,嫩荚果采收脱粒后的种子呈褐色或棕黑色,种子硬实

率很低,发芽率很高,黄荚果采收后的种子为黑褐色或黑色,种子硬实率高,发芽率低。采收期早晚可能不仅影响种子硬实率,还会影响到种子内源抑制物质活性(含量),这有待于进一步证明

参考文献:

[1] 中国药材公司. 中国常用中药材 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
[2] 赵敏,王炎,张伟. 北五味子种子内源抑制物质特性的初步研究 [J]. 东北林业大学学报, 1999, 27(5): 62-64.
[3] 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.
[4] 赵敏,王炎,张伟. 北五味子种子内源抑制物质活性的消长规律 [J]. 东北林业大学学报, 1999, 27(3): 44-47.
[5] 赵敏,徐兆飞,王荣华,等. 桔梗种子内源抑制物质特性的初步研究 [J]. 东北林业大学学报, 2000, 28(1): 51-54.

新疆贝母的紫外光谱鉴别

顾雪中,沈国芳*

(上海市金山区药品检验所,上海 201500)

摘要: 目的 研究新疆贝母的鉴别依据。方法 利用紫外分光光度法测定和比较了新疆贝母与其它 4 种贝母样品无水乙醇提取物的紫外光谱。结果 新疆贝母与其它 4 种贝母有明显而稳定的差异。结论 该光谱特征作为新疆贝母与其它 4 种贝母区别的依据。
关键词: 新疆贝母; 贝母; 紫外光谱
中图分类号: R282. 710. 3 文献标识码: B 文章编号: 0253- 2670(2001) 07- 0646- 02

UV spectral identification of *Fritillaria walujewii*

GU Xue-zhong, SHEN Guo-fang

(Jinshan District Institute for Drug Control of Shanghai, Shanghai 201500, China)

Abstract Object To develop a method for the identification of *Fritillaria walujewii* Regel by UV spectrum. **Methods** UV spectrum of the absolute alcoholic extract of *F. walujewii* was determined and compared with that of four other similarly treated *Fritillaria* species. **Results** The UV spectrum of *F. walujewii* was consistently different with that of the other four species. **Conclusion** UV spectrum can be used to differentiate *F. walujewii* from other species of *Fritillaria*.
Key words *Fritillaria walujewii* Regel; Beimu (Liliaceae); UV spectrum

新疆贝母 *Fritillaria walujewii* Regel 具有清热润肺,化痰止咳的作用。用于肺热咳嗽,干咳少痰,阴虚劳嗽,咯痰带血。功效几与川贝母相同^[1]。2000年

版药典将之收载在伊贝母条下,有别于川贝母。由于川贝母资源紧缺,有用新疆贝母充当川贝母上市。故应加以区别

* 收稿日期: 2001-02-14