

## 防风种子中内源抑制物质活性的研究

赵 敏

(东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘 要:** 目的 通过防风种子提取物对白菜、小麦、防风抑制活性的研究, 探讨防风种子发芽率低, 播种后出苗缓慢的原因。方法 制备防风种子粗提物并测定其对白菜、小麦、防风种子萌发和幼苗生长的抑制活性; 制备粗提物的乙醚萃取液和乙醚萃取残余液并分别进行纸色谱分离, 测定各区段的活性; 用不同溶剂和温水(41、45)浸种, 测定各批次浸泡液的抑制活性。结果 防风种子中存在活性较强的内源抑制物质, 且其乙醚萃取液在 $R_f 0.6$ 区段对白菜种子萌发抑制活性最强; 防风种子粗提物对防风种子萌发和幼根生长也有较强的抑制活性; 防风种子粗提物对小麦幼苗的地上部分生长有较强抑制作用; 温水浸种可除去大部分内源抑制物质。结论 防风种子内源抑制物质是导致防风种子发芽率低、播种后出苗缓慢的主要原因。

**关键词:** 防风种子; 内源抑制物质; 纸色谱; 温水浸种

中图分类号: R 282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)04-0411-04

### Studies on intrinsic inhibitor activity in seed of dried root of *Saposhnikovia divaricata*

ZHAO M in

(College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** **Object** To investigate the reason of the low germination and sprout rates by studying on inhibitory activities of the crude extracts of the seed of the dried root of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk (DRSD) on *B. rassica*, wheat and the seed of DRSD. **Methods** The ether extract and residue of the crude extract were prepared and treated by paper chromatography. The inhibitory activities of different fractions with different  $R_f$  value were determined. Effect of steeping the seed in warm water at 41 and 45 for different periods of time was also studied, respectively. **Results** There are intrinsic inhibitor in the seed of DRSD with strong activity. The portion of its ether extract with  $R_f 0.6$  showed the strongest inhibitory activity for the germination of *B. rassica* seed. The crude extract of the seed of DRSD also has the stronger inhibitory activity to the germination and growth of tender root of *S. divaricata* and has the same effect on aerial part of wheat sprouts. Steeping with warm water and solvent can remove most of the intrinsic inhibitor. **Conclusion** Intrinsic inhibitor in the seed of DRSD is the main factor that results in the low germination and sprouting slowly after seeding.

**Key words:** seed of the dried root of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.; intrinsic inhibitor; paper chromatography; steeping seed in warm water

防风系伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的干燥根, 有解表祛风、胜湿、止痉等功能, 是治疗外感风寒的常用中药, 也是许多中成药的主要原料和我国的传统出口商品, 年需求量2 000 t 以上。由于过量采挖、草原开荒等原因, 防风的野生资源遭到破坏, 收购量大幅度下降, 因此在适合生长防风的荒地或耕地进行人工栽培,

是从根本上防止供需矛盾的有效途径。

防风的人工栽培生产是把防风的半个双悬果(下称为种子)作为一个播种单位播入土壤。春播播后, 20 d 后开始出苗, 持续约 40~50 d, 且出苗不齐。东北地区春季有“十年九旱”的气候特点, 出苗缓慢、出苗不齐和春旱经常给防风的人工栽培带来巨大的损失。所以对防风种子萌发、出苗缓慢等原因进

收稿日期: 2003-08-05

基金项目: 黑龙江省重大攻关项目(GA02C401-02); 黑龙江省自然科学基金资助项目(C00-33); 国家“十五”重大科技专项(2001BA701A 59)

作者简介: 赵 敏(1964-), 男, 黑龙江省富锦县人, 教授, 硕士, 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中药研究所和东北林业大学, 主要研究方向为药用植物种子休眠生理学; 污染物的微生物降解技术。 Tel: (0451)82191513 E-mail: zm@hljgh.org

行研究是十分必要的。

## 1 材料与方法

1.1 材料: 于 1999 年-2001 年连续 3 年秋季从赤峰市购得新采集的野生防风种子, 作为供试种子, 分别进行研究。原植物经东北林业大学董世林教授鉴定为防风 *S. divaricata* (Turcz.) Schischk.。

## 1.2 方法

1.2.1 内源抑制物质粗提物制备及活性测定: 按赵敏等<sup>[1]</sup>的方法, 制备 0.20 g/mL (每毫升粗提液含种子质量数) 的粗提物; 用白菜种子测定粗提物的活性。

1.2.2 防风种子乙醚提取物制备及纸色谱: 参考赵敏<sup>[2]</sup>的方法制备粗提物, 室温下再用同体积的乙醚萃取 3 次, 合并 3 次萃取液浓缩定容至 100 mL, 即为乙醚提取物, 将萃取后的残余液再定溶至 100 mL, 即为乙醚萃取残余液, 将乙醚提取物、萃取残余液分别纸色谱分离, 滤纸为新华 1 号, 色谱分离后分段进行生物测定。

1.2.3 防风种子粗提物对防风种子萌发的抑制活性影响: 向 90 mm 铺有滤纸的培养皿中, 注入总体积 10 mL 的适量水和粗提物, 使培养皿中粗提物系列浓度为: 0 (对照), 0.02, 0.04, 0.08, 0.012, 0.016 g/mL。每个培养皿中放入 25 粒饱满均匀用水浸泡 24 h 后的防风种子, 于 20℃ 条件下黑暗中培养, 每 3 天取出种子用流水冲洗 1 次, 并向各培养皿内补充等体积的少量水, 20 d 记录种子发芽率和幼根长度, 实验重复 3 次。

1.2.4 防风种子粗提物对小麦种子萌发和幼苗生长的抑制活性影响: 按吴啸业的方法<sup>[3]</sup>, 设置粗提物浓度系列为 0.04, 0.08, 0.12 g/mL, 分别测定其对小麦种子萌发和幼苗生长的影响。

1.2.5 溶剂浸种去抑制物质方法研究: 参考赵敏等<sup>[4]</sup>的方法, 各取 40 粒防风种子放入三角瓶中, 分别向三角瓶中注入 10 mL 蒸馏水、丙酮、甲醇、乙醚、乙醇, 用塑料膜封好瓶口, 实验重复 3 次。在温度 10 ~ 20℃ 浸泡 72 h 后, 各取 6 mL 浸泡液进行生物测定, 除水外的其他 4 种溶剂浸泡液, 取出 6 mL 加入培养皿中, 待挥发后再补加 6 mL 蒸馏水进行生物测定。

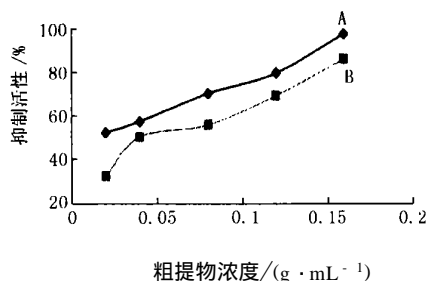
1.2.6 温水浸种去抑制物质方法研究: 参考赵敏等<sup>[4]</sup>的方法, 各取 5 g 处于休眠状态的种子放在 50 mL 三角瓶中, 注入 20 mL 蒸馏水, 瓶口用塑料薄膜封严, 实验重复 3 次。在 41℃ 或 45℃ 条件下放置 24 h。抽取浸泡液 6 mL, 倒出余下残液, 再注入 20

mL 水封严继续浸提, 如此重复 7 d, 用抽取的 6 mL 的浸泡液进行生物测定。

1.2.7 对发芽率的抑制活性计算: 抑制活性 = 1 - 发芽率为对照的百分率。其他依此法计算。

## 2 结果与分析

2.1 内源抑制物质活性与粗提物浓度的关系: 设置粗提物浓度系列为 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影响。结果见图 1。防风种子粗提物对白菜种子萌发及幼根生长有较强的抑制活性, 且抑制活性随粗提物浓度增加而增加, 当粗提物浓度为 0.16 g/mL 时, 对白菜种子萌发和幼根生长抑制活性分别达到 97.44% 和 85.88%, 粗提物对白菜种子萌发的抑制活性高于对白菜幼根生长的抑制活性。



A-对白菜种子萌发抑制活动 B-对白菜幼根生长的抑制活性

A-Inhibitory activities on germination of *B. brassica* seed

B-Inhibitory activities on growth of young *B. brassica* root

图 1 粗提物的抑制活性

Fig. 1 Inhibitory activities of young crude extracts

2.2 乙醚提取液纸色谱各区段的抑制活性: 图 2, 3 结果表明, 防风种子乙醚提取液纸色谱在 R<sub>f</sub> 值 0.6 区段对白菜种子萌发抑制活性最强达到 91%, 在 R<sub>f</sub> 值 0.1 和 1.0 区段抑制活性分别达到 90.6% 和 90%。在 R<sub>f</sub> 值 0.2 和 0.5 区段对白菜幼根生长的抑制活性最强为 78%, 在 R<sub>f</sub> 值 0.8 区段抑制活性为 77%。比较图 2 和 3 折线下封闭面积可知, 防风种子乙醚提取物对白菜种子萌发抑制活性高于对白菜幼根生长的抑制活性。

图 4, 5 结果表明, 防风种子乙醚萃取残余液纸色谱在 R<sub>f</sub> 值 0.4 区段对白菜种子萌发抑制活性最强达到 89%; 在 R<sub>f</sub> 值 0.2 区段对白菜幼根生长抑制活性最强达到 51%, 在 R<sub>f</sub> 值 0.1, 0.4, 0.5 区段, 则有促进白菜幼根生长作用, 其中 R<sub>f</sub> 值 0.5 区段, 促进作用可达 29%。比较图 4, 5 折线下封闭面积可知, 防风种子乙醚提取物和乙醚萃取残余液对白菜种子萌发抑制活性高于对白菜幼根生长的抑制活性。

比较图 2~5 可知, 防风种子乙醚提取物和乙醚

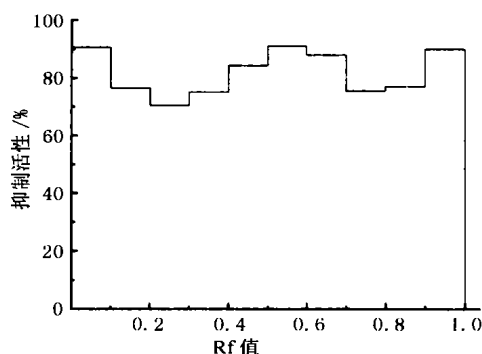


图 2 乙醚提取液纸色谱各区段对白菜种子萌发的抑制活性

Fig. 2 Inhibitory activities of ether extract in different fractions of paper chromatography on germination of Brassica seed

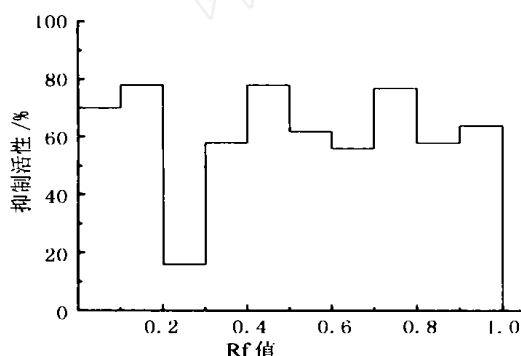


图 3 乙醚提取液纸色谱各区段对白菜幼根生长的抑制活性

Fig. 3 Inhibitory activities of ether extract in different fractions of paper chromatography on growth of young Brassica root

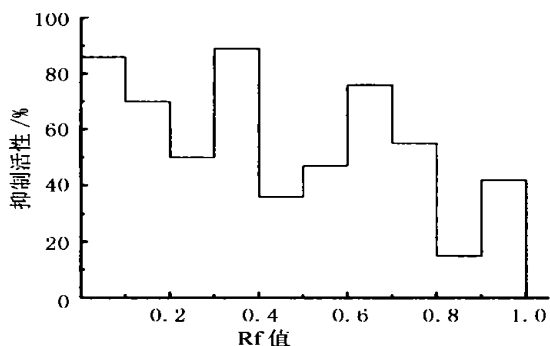


图 4 乙醚萃取残余液纸色谱各区段对白菜种子萌发的抑制活性

Fig. 4 Inhibitory activities of residue of ether extract in different fractions of paper chromatography on germination of Brassica seed

萃取残余液对白菜种子萌发抑制活性高于对白菜幼根生长的抑制活性,这与 2.1 项下的结果是一致的;

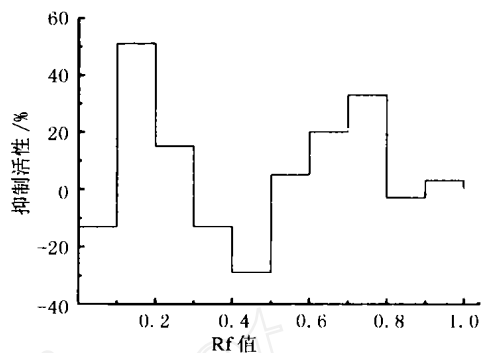


图 5 乙醚萃取残余液纸色谱各区段对白菜幼根生长的抑制活性

Fig. 5 Inhibitory activities of residue of ether extract in different fractions of paper chromatography on growth of young Brassica root

乙醚萃取残余液对白菜种子萌发和白菜幼根生长的抑制活性分别低于乙醚提取物对白菜种子萌发和白菜幼根生长的抑制活性。

2.3 粗提物对防风种子萌发的影响: 粗提物对防风种子萌发影响的结果见表 1。防风种子粗提物对防风种子萌发及幼根生长有明显的抑制活性,且抑制活性随粗提物浓度增大而增强,其中对种子萌发抑制活性较强。

表 1 防风粗提物对防风种子萌发及幼根生长的影响

Table 1 Influence of crude extract of dried root of *S. divaricata* on germination of *S. divaricata* seed and growth of young root

浓度/(g · mL <sup>-1</sup> )	对种子萌发抑制活性/%	对幼根生长抑制活性/%
0.02	12.35	7.86
0.04	19.78	15.42
0.08	29.69	27.82
0.12	46.72	36.48
0.16	57.25	39.64

2.4 粗提物对小麦种子萌发和幼苗生长的影响: 防风种子粗提物对小麦种子萌发及幼苗生长的影响结果见表 2。防风种子粗提物浓度在 0.04~ 0.12 g/mL,表现出有促进小麦种子萌发作用;粗提物浓度在 0.04~ 0.08 g/mL 对小麦幼苗地下部分生长有促进作用,粗提物浓度为 0.12 g/mL 时对小麦幼苗地下部分生长有抑制作用。总的趋势是随着粗提物浓度增加,促进作用转化为抑制作用;在试验的浓度范围内,粗提物对小麦幼苗地上部分生长表现出抑制作用,且随浓度增大抑制作用增加。

## 2.5 除去抑制物质方法研究

2.5.1 不同溶剂浸泡防风种子浸泡液的抑制活性: 不同溶剂浸种去除抑制物质研究结果见表 3。用各种溶剂浸泡防风种子,其浸泡液对白菜种子萌发和白菜

幼根生长都有较强的抑制活性,乙醇和甲醇浸泡液抑制活性最强,蒸馏水、乙醚浸泡液抑制活性最低。

表 2 粗提物对小麦种子萌发及幼苗生长的影响

Table 2 Influence of crude extract of seed of DRSD on germination and sprout of wheat seed

粗提物浓度/ (g · mL <sup>-1</sup> )	对种子萌发 抑制活性/%	对地上部分 抑制活性/%	对地下部分 抑制活性/%
0.04	- 9.85	32.73	- 22.05
0.08	- 4.94	34.36	- 5.48
0.12	- 8.21	49.25	27.30

表 3 不同溶剂浸泡防风种子的浸泡液的抑制活性

Table 3 Inhibitory activities of soaks of seed of DRSD steeped by different solvents

溶 剂	对种子萌发抑制活性/%	对幼根生长抑制活性/%
蒸馏水	37.35	48.96
甲 醇	50.88	64.90
乙 醇	55.88	63.65
乙 醚	38.24	33.64
丙 酮	58.82	49.81

2.5.2 温水浸种去除抑制物质的研究:温水浸种去除抑制物质的研究结果见表 4。41 和 45 温水浸泡防风种子,其内源抑制物质可被温水浸泡出来;防风种子的浸泡液随着浸泡天数增加,浸泡液的抑制活性逐渐降低,前 1~2 d 的浸泡液对白菜种子萌发和幼根生长抑制活性普遍接近 100%,且浸泡到 5~7 d,浸泡液的抑制活性普遍有升高趋向;浸泡液对白菜种子萌发和幼根生长的抑制活性相差不大。

### 3 讨论

防风种子中存在着活性较高的内源抑制物质,各种溶剂对其溶解能力的大小排序依次为乙醇、甲醇、丙酮、乙醚或蒸馏水,可见其在极性有机溶剂中溶解性较强,由此推断其主要为极性有机化合物。防风种子内源抑制物质的种类,有待进一步分离、纯化和鉴定。

防风生产一般播种前用 40 ~ 45 温水浸种过夜(12~24h),可促进种子提早萌发和出齐苗,温

表 4 温水浸种的不同批次浸泡液的抑制活性

Table 4 Inhibitory activities of soaks for seed of DRSD steeped by warm water with different time

时间/d	41		45	
	对种子萌发 抑制活性/%	对幼根生长 抑制活性/%	对种子萌发 抑制活性/%	对幼根生长 抑制活性/%
1	95.56	100	100	100
2	94.95	100	98.99	100
3	93.94	88.20	96.97	89.78
4	76.77	74.07	85.86	65.02
5	18.18	19.64	32.32	20.57
6	37.37	9.69	50.51	25.71
7	20.20	37.81	32.32	35.58

水浸种的作用不仅是软化种皮提高其通透性,更重要作用在于温水浸种可浸泡出大量内源抑制物质,降低内源抑制物质对防风种子萌发和幼苗生长的抑制作用,促进早出苗和出齐苗。笔者观察到,生产上温水浸种的棕色浸泡液倾倒在田附近蒿草上,蒿草生长也受到了严重抑制。

防风播后出苗缓慢,出苗不齐制约了生产的发展,特别是东北地区(关防风主产区)春季干旱多风,往往造成生产田缺苗甚至毁地重种。防风种子内源抑制物质的去除方法的更深入研究,可为防风种子处理技术的建立提供理论依据。

### References

- [1] Wang Y, Zhao M, Yu J L. Study on the dormancy characteristic and inner inhibitory substances of *Fructus Schisandrae* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(1): 10-12.
- [2] Zhao M, Wang Y, Zhang W. The changes of activity for the inner inhibitory substances of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill seeds [J]. *J Northeast Forestry Univ* (东北林业大学学报), 1999, 27(3): 44-47.
- [3] Wu X Y. Elementary study on the characters of the inner inhibitory substances of *Taxus cuspidate* seeds [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1985 (4): 23-26.
- [4] Zhao M, Wang Y, Zhang W. Elementary study on the characters of the inner inhibitory substances of *Schisandra* seeds [J]. *J Northeast Forestry Univ* (东北林业大学学报), 1999, 27(5): 62-64.

## 多种密度、浓度计 总有一款适合您

我厂专业生产多种型号的溶液密度计、电导率仪和溶液浓度计,可广泛地适用于工业、医药生产过程中,包括酒精、中药提取液在内的多种溶液的密度或浓度的自动在线检测。还有供室内使用的台式密度计(特别推荐)。

### 上海浦东新区三海智能仪表厂

厂址: 上海张江高科技园区 电话: (021) 58377810

网址: www. sanhai. com 3721 网络实名: 密度计、溶液浓度计