

网络出版时间:2016-04-07 09:00 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2016.05.024
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20160407.0900.048.html>

凤丹胚乳内源抑制物质活性及其成分的 GC-MS 鉴定

孙晓刚,丁 言,郭太君,马 赛

(吉林农业大学 园艺学院,吉林 长春 130118)

【摘 要】【目的】研究凤丹种子胚乳中内源抑制物质活性及其成分组成,为了解其休眠机理提供参考。【方法】采用系统溶剂分离法,分离萃取凤丹胚乳中的内源抑制物质,对 4 种有机溶剂(石油醚、乙酸乙酯、乙醚、甲醇)萃取液和水相进行白菜种子发芽试验,确定发挥抑制作用的优势组分,并对其成分进行 GC-MS 分析。【结果】凤丹种子胚乳各有机溶剂萃取液对白菜种子发芽率和幼苗苗高生长、根长生长均有不同程度的抑制作用,但抑制物质活性存在一定差异。4 种有机溶剂萃取液中抑制作用最强的是乙醚组分,其次是甲醇组分,再次是乙酸乙酯组分。利用 GC-MS 方法从乙醚组分中共检出 6 种物质,主要为乙酸(66.661%)、甲酸(25.996%)、乙酐(2.399%)、苯酚(2.217%)等;从乙酸乙酯组分中共检出 11 种物质,主要为乙酸(56.343%)、甲酸(14.772%)、DL-3-乙基乙酸丁酸酯(6.266%)、乙酐(4.834%)等;从甲醇组分中共检出 33 种物质,主要为苯甲酸(32.631%)、1,3-二羟基丙酮(10.997%)、5-羟甲基糠醛(8.964%)、乙酸(5.751%)等;这些物质中被证实有抑制活性的是乙酸和苯甲酸;GC-MS 检出物主要为有机酸类、酮类、酯类和醛类等,不同组分中相对含量高的均为有机酸类物质。【结论】乙醚萃取液中的化合物可能是导致凤丹种子萌发受抑制的主要物质。

【关键词】 凤丹;胚乳;内源抑制物质;GC-MS

【中图分类号】 S685.110.4⁺1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2016)05-0177-08

Activities and GC-MS identification of endogenous inhibitory substances in endosperm of *Paeonia ostii*

SUN Xiao-gang, DING Yan, GUO Tai-jun, MA Sai

(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: 【Objective】 This paper studied activities and components of inhibitory substances in seed endosperm of *Paeonia ostii* to understand the dormancy mechanism. 【Method】 System solvent separation was used to extract endogenous inhibiting substances in endosperm of *P. ostii* with four organic solvents (petroleum ether, ethyl acetate, ethyl ether, methanol) and water, and seed germination of Chinese cabbage was tested. Then, the dominant components of inhibitory substances were determined using GC-MS analysis. 【Result】 The seed germination rate and height and root length of seedling of Chinese cabbage were inhibited by organic solvent extracts of inhibitory substances in seed endosperm of *P. ostii*. There were differences in the inhibition effects with a decreasing order of ethyl ether > methanol > ethyl acetate > petroleum ether. Six substances including acetic acid (66.661%), formic acid (25.996%), acetic anhydride (2.399%), and phenol (2.217%) were detected by GC-MS from ether extract. Eleven were detected from ethyl acetate extract including acetic acid (56.343%), formic acid (14.772%), ethyl (+)-3-acetoxypentanoate (6.266%), and acetic anhydride (4.834%). Thirty-three substances including benzoic acid (32.631%),

【收稿日期】 2015-03-24

【基金项目】 吉林省科技发展计划项目(2013020607NY)

【作者简介】 孙晓刚(1969-),男,吉林长春人,副教授,硕士,硕士生导师,主要从事园林规划设计及园林植物配置与应用研究。
E-mail:120082055@qq.com

1,3-dihydroxy-2-propanone (10.997%), 5-(hydroxymethyl)-2-Furancar-boxaldehyde (8.964%), and acetic acid (5.751%) were obtained from methanol extract. The substances with inhibitory effects were acetic acid and benzoic acid. 【Conclusion】 The compounds identified in the ether extract may be the main substances inhibiting seed germination of *P. ostii*.

Key words: *Paeonia ostii*; endosperm; inhibitory substance; GC-MS

凤丹(*Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang)即铜陵牡丹^[1],是著名的药用牡丹品种,主要分布在安徽铜陵凤凰山一带,是安徽道地药材凤丹皮的原植物,具有很高的栽培价值^[2]。凤丹主要以种子繁殖为主,但由于种子具有很长的休眠期和典型的休眠特性^[3-5],因此在自然情况下种子萌发率很低,这使凤丹种苗生产受到较大限制。植物种子休眠的一个主要原因是在种子的不同部位中存在抑制物质^[6]。如从种皮、果皮、胚乳和胚中能分离出某些化合物,这些物质的存在阻碍了种子生理活动的某个代谢环节,从而影响了种子发芽过程的进行^[7]。

张艳杰^[8]、韩宝瑞等^[9]、杨晓玲等^[10]采用系统溶剂分离法分别对南方红豆杉种子、西洋参果实和山楂种子的浸提液进行分离,发现抑制物质主要存在于种子的乙醚萃取液和甲醇萃取液中。周仁超等^[11]研究发现,紫斑牡丹种子中含有某些影响种子后熟和发芽的化学物质,导致种子休眠。但目前有关影响凤丹种子发芽过程生理代谢的化学物质及其组成却鲜有报道。因此,本试验采用系统溶剂分离法对凤丹种子胚乳的内源抑制物质进行萃取,并对各有机溶剂萃取液进行生物测定,选取活性最强的组分,用 GC-MS 对胚乳中的主要物质进行鉴定,以期为进一步研究凤丹种子内源抑制物质及其休眠机理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供体材料为凤丹当年种子,购自河南省洛阳市土桥花木种苗有限公司。种子千粒质量为 296.0 g。受体材料为白菜种子,均为市售,纯度 95%,净度 98%,发芽率 85%以上,含水量约 8%。

1.2 方法

1.2.1 凤丹胚休眠特性的检验 选取饱满的凤丹种子,采用浸种法去除上浮的不充实种子,留下饱满种子待用。供试种子在室温下浸泡 24 h,使种子充分吸水膨胀,流水下冲洗 30 min 后在超净工作台上用体积分数 70%乙醇消毒 30 s,用无菌水冲洗 3 次,再用质量分数 0.1%的升汞消毒 8 min,无菌水冲洗

5 次,在超净工作台上分离出种胚并接种于培养基上,培养条件为温度(25±2)℃,光照强度 1 000 lx,光照时间 12 h/d。30 个胚,3 次重复,30 d 后统计各处理种子萌发数量。

1.2.2 凤丹胚乳中内源抑制物质的萃取与分离

将饱满种子胚乳研磨后取 10 g 置于三角瓶内,加入体积分数 80%甲醇溶液使胚乳完全浸没,4℃密闭浸提,定期搅拌使其充分浸提,每隔 24 h 将浸提液真空抽滤,收集滤液后再重新加入体积分数 80%甲醇溶液浸提,重复数次直至浸提液颜色变浅为止,再将所有滤液混合。

采用系统溶剂分离法^[12]对上述胚乳甲醇浸提液进行初步分离,分离流程如图 1 所示。将浸提液分离成 5 种组分:石油醚组分、乙醚组分、乙酸乙酯组分、甲醇组分和水组分。将胚乳的各有机溶剂提取液用高速离心机于 4 000 r/min 离心 5 min,收集上清液,真空抽滤,滤液分别置于旋转蒸发仪上减压浓缩至 50 mL(即得质量浓度 0.2 g/mL 的浓缩液),然后用塑料薄膜封住瓶口,置于 4℃冰箱中保存待用。

1.2.3 白菜种子处理 在 35℃水浴条件下,将白菜种子用质量分数 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后选出籽粒饱满的种子,风干待用。

1.2.4 不同溶剂相中抑制物质活性的测定 取胚乳各有机溶剂萃取液 3 mL,分别加入垫有 2 层滤纸的直径 9 cm 培养皿中(48 h 内定时补给蒸馏水确保水分充足),以相同体积蒸馏水处理为对照。每处理重复 3 次,每个重复 30 粒白菜种子,在 25℃恒温光照培养箱内进行白菜籽发芽试验。48 h 后统计发芽(以胚根长大于种子长的 1/2 为发芽标准)数量,计算发芽率,72 h 后测量苗高和主根长,96 h 后统计侧生根数量和侧生根长度。

1.2.5 抑制作用优势组分的鉴定 根据 1.2.4 节的测定结果,从抑制活性物质中选取强活性组分,采用 GC-MS 分析鉴定其具体组成。仪器为:Agilent 6890N 气相色谱-质谱联用仪。气相色谱条件:WAX 石英毛细管柱 6 m×0.25 mm×0.25 mm,柱

温 60~250 ℃,程序升温 10 ℃/min,载气为氦气,气
化室温度为 250 ℃。质谱条件:离子源 EI,源温 230
℃,电离电压 70 eV,20~450 amu 扫描。GC-MS 分
析图谱经计算机数据系统检索并与 Nist2008 标准

谱图对比,再进行人工分析,以确定各组分的结构和
名称;以鉴定图谱中每个峰面积与总峰面积的比值
代表该成分在所测有机化合物中的相对含量。

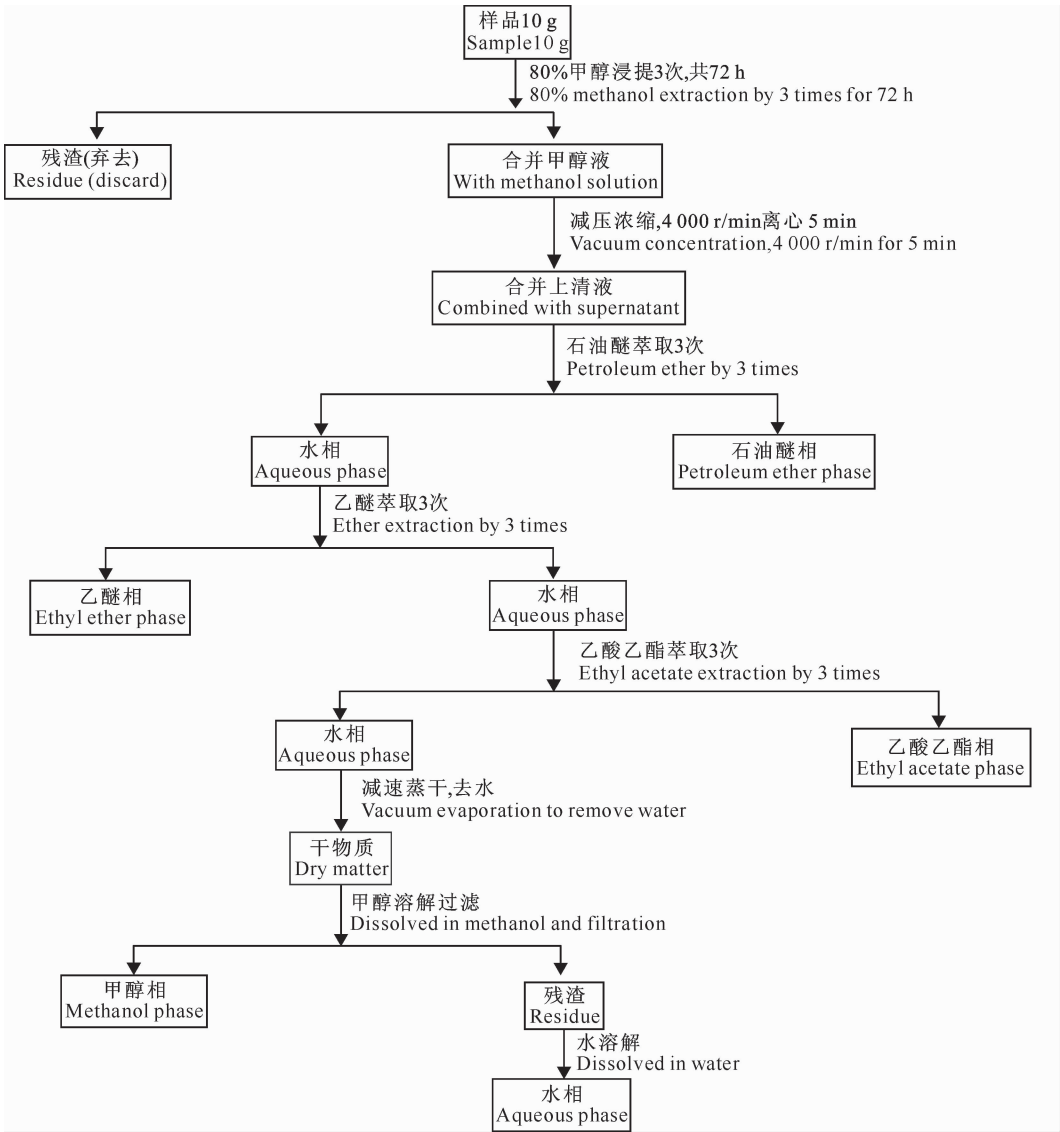


图 1 凤丹种子内源抑制物质的系统溶剂分离流程

Fig. 1 Separation system of endogenous inhibitory substances from seeds of *Paeonia ostii*

1.3 数据分析

采用 SPSS18.0 软件对试验数据进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 凤丹胚休眠特性的检验

对凤丹离体胚进行组织培养,结果发现,在整个培养过程中,所有供试凤丹种子的外植体充分吸胀,子叶转为淡绿色,均有萌发成苗的现象。表明本试验所用的凤丹种子种胚本身无休眠特性。

2.2 凤丹胚乳各有机溶剂萃取组分对白菜种子发芽的影响

由表 1 可知,与对照相比,用凤丹种子胚乳石油醚组分、乙醚组分、乙酸乙酯组分、甲醇组分和水相处理的白菜种子发芽率,分别降低了 35.60%,68.90%,40.00%,41.10%和 36.70%,且差异均达到极显著水平,说明凤丹胚乳有机溶剂各组分萃取液对白菜种子发芽均存在一定的抑制作用,且乙醚组分的抑制作用最强。除乙醚组分处理外,其他各组分处理之间无显著差异。各有机溶剂萃取液对白

菜种子发芽的抑制作用大小为:乙醚>甲醇>乙酸 乙酯>水>石油醚。

表 1 凤丹胚乳各有机溶剂萃取组分对白菜种子发芽与幼苗生长的影响

Table 1 Effect of extract components from endosperm of *Paonia ostii* on seed germination and seeding growth of Chinese cabbage seeds

处理溶剂 Treatment	发芽率/% Germination percentage	主根长/cm Taproot length	苗高/cm Seedling height	侧生根数量 Number of lateral root	侧生根长度/cm Measurement of root length
蒸馏水(CK) Water	80.0±0.10 aA	2.96±0.06 aA	1.30±0.17 aA	3.33±0.58 aA	0.53±0.06 aA
石油醚 Petroleum ether	44.4±0.08 bB	2.27±1.27 aAB	0.97±0.49 abA	3.33±1.25 aA	0.37±0.15 abAB
乙醚 Ethyl ether	11.1±0.03 cC	0.13±0.06 bC	0.03±0.06 cB	—	—
乙酸乙酯 Ethyl acetate	40.0±0.07 bB	0.50±0.10 bC	0.60±0.26 bcAB	2.00±1.00 abAB	0.13±0.06 cdBC
甲醇 Methanol	38.9±0.03 bB	0.33±0.06 bC	0.57±0.47 bcAB	1.00±1.00 bB	0.17±0.06 bcdBC
水 Water	43.3±0.15 bB	0.97±0.68 bBC	0.63±0.32 bAB	2.00±2.00 abAB	0.23±0.25 bcABC

注:同列数据后标不同大写字母表示在 $\alpha=0.01$ 水平上差异极显著,标不同小写字母表示在 $\alpha=0.05$ 水平上差异显著。

Note: Different capital letters represent extremely significant difference at $\alpha=0.01$ level, while lowercase letters represent significant difference at $\alpha=0.05$ level.

2.3 凤丹胚乳各有机溶剂萃取组分对白菜幼苗生长的影响

2.3.1 主根长 由表 1 可知,凤丹种子胚乳石油醚组分处理的白菜幼苗主根长与对照相比无显著差异;乙醚组分、乙酸乙酯组分、甲醇组分和水相处理的白菜幼苗主根长均极显著低于对照,且这 4 个处理间无显著差异。各有机溶剂组分对白菜主根生长的抑制作用大小顺序为:乙醚>甲醇>乙酸乙酯>水>石油醚。

2.3.2 苗高 由表 1 可知,凤丹种子胚乳石油醚组分处理的白菜苗高与对照相比无显著差异,其他各组分均显著或极显著小于对照,说明有机溶剂各组分萃取液对白菜种子发芽有一定的抑制作用,且以乙醚组分的抑制作用最强,除乙醚组分外的其余 4 个处理间无显著差异。各有机溶剂组分对白菜幼苗苗高的抑制作用大小顺序为:乙醚>甲醇>乙酸乙酯>水>石油醚。

2.3.3 侧生根数量和长度 由表 1 可知,凤丹种子胚乳石油醚组分、乙酸乙酯组分和水相处理的白菜幼苗侧生根数量与对照相比无显著差异,而甲醇组

分处理的白菜幼苗侧生根数量与对照相比降低了 69.69%,各有机溶剂组分对白菜幼苗侧生根萌生的抑制作用大小顺序为:乙醚>甲醇>乙酸乙酯>水>石油醚。由表 1 还可知,凤丹种子胚乳乙醚组分处理的白菜幼苗未萌生侧生根,除石油醚组分外,其他各处理侧生根长度均显著或极显著低于对照。各有机溶剂组分对白菜幼苗侧生根长度的抑制作用大小顺序为:乙醚>乙酸乙酯>甲醇>水>石油醚。

以上结果表明,凤丹种子胚乳各不同有机溶剂组分对白菜种子萌发和幼苗生长均有不同程度的抑制作用,其中以石油醚组分的抑制作用最弱,乙醚组分的抑制作用最强,其次是甲醇组分,再次是乙酸乙酯组分。

2.4 凤丹种子内源优势抑制活性组分成分的鉴定

2.4.1 乙醚组分中各成分的鉴定 利用 GC-MS 鉴定了凤丹种子胚乳乙醚组分萃取液的主要成分,从中共分离出 15 个峰,将各峰经质谱扫描后的质谱图,用质谱计算机数据系统检索并与标准图谱进行核对,从离子流程图(图 2)中选择出峰面积和相似度较大的有机化合物 6 种(表 2)。

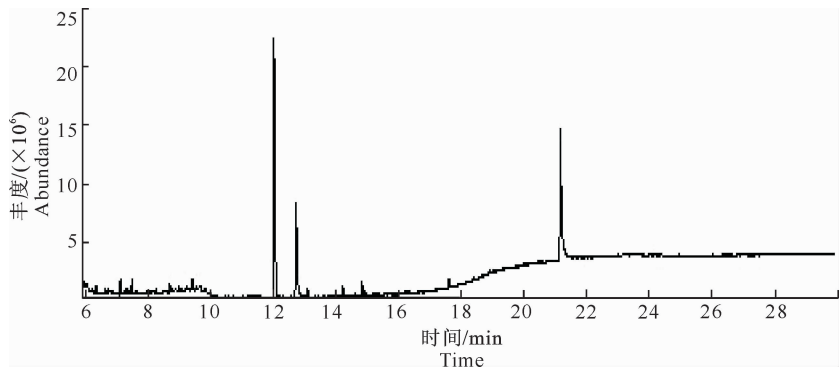


图 2 凤丹胚乳乙醚组分的 GC-MS 鉴定图谱

Fig. 2 GC-MS spectrum of ether components in *Paonia ostii* endosperm

表 2 凤丹胚乳内源优势抑制活性组分的成分分析
Table 2 Inhibitory components in *Paeonia ostii* endosperm

来源 Origin	保留时间/min Retention time	分子式 Molecular formula	有机化合物 Organic compound	相对含量/% Relative content
乙醚组分 Ethyl ether components	9.416	C ₄ H ₆ O ₃	乙酐 Acetic anhydride	2.399
	12.029	C ₂ H ₄ O ₂	乙酸 Acetic acid	66.661
	12.734	CH ₂ O ₂	甲酸 Formic acid	25.996
	13.092	C ₇ H ₁₆ O	2-乙氧基戊烷 2-Ethoxypentane	0.932
	14.224	C ₈ H ₈ O ₂	苯甲酸甲酯 Benzoic acid, methyl ester	1.795
	17.603	C ₆ H ₆ O	苯酚 Phenol	2.217
乙酸乙酯组分 Ethyl acetate components	9.417	C ₄ H ₆ O ₃	乙酐 Acetic anhydride	4.834
	11.559	C ₆ H ₁₄ O ₂	乙二醇单丁醚 Ethanol,2-butoxy	0.718
	11.751	C ₄ H ₈ O ₃	羟基乙酸乙酯 Hydroxy acetic acid ethyl ester	0.652
	12.047	C ₂ H ₄ O ₂	乙酸 Acetic acid	56.343
	12.395	C ₅ H ₁₀ O ₂	1-丙酯乙酸 Acetic acid,1-methylethyl ester	1.907
	12.465	C ₈ H ₁₄ O ₄	2,3-二乙基丁二酸 2,3-Butanedioldiacetate	4.608
	12.743	CH ₂ O ₂	甲酸 Formic acid	14.772
	13.484	C ₈ H ₁₄ O ₄	DL-3-乙基乙酸丁酸酯 Ethyl(+)-3-acetoxybutyrate	6.266
	14.006	C ₁₂ H ₂₄ O ₆	18-冠-6-醚 18-Crown-6-ether	2.787
	14.215	C ₈ H ₈ O ₂	苯甲酸甲酯 Benzoic acid, methyl ester	1.696
甲醇组分 Methanol components	14.520	C ₈ H ₁₄ O ₄	丁二酸二乙酯 Diethyl succinate	1.202
	9.983	C ₅ H ₆ N ₂	2-甲基嘧啶 2-Methylpyrimidine	0.189
	10.470	C ₃ H ₆ O ₂	羟基丙酮 1-hydroxy-2-Propanone	2.429
	10.845	C ₃ H ₆ O ₃	1,3-二羟基丙酮 1,3-Dihydroxy-2-propanone	10.997
	12.090	C ₂ H ₄ O ₂	乙酸 Acetic acid	5.751
	12.221	C ₄ H ₆ O ₃	丙酸-2-氧-甲酯 Propanoic acid,2-oxo-, methyl ester	1.997
	12.447	C ₅ H ₄ O ₂	3-糠醛 3-Furaldehyde	1.184
	12.778	CH ₂ O ₂	甲酸 Formic acid	3.351
	13.727	C ₆ H ₆ O ₂	5-甲基-2-糖醛 5-methyl-2-Furancarboxaldehyde	0.119
	13.910	C ₅ H ₄ O ₂	2-环戊烯-1,4-二酮 2-Cyclopentene-1,4-dione	0.184
	14.102	C ₃ H ₄ O ₂	2-丙烯酸 2-Propenoic acid	0.212
	14.389	C ₅ H ₆ O ₂	2-呋喃甲醇 2-Furanmethanol	2.842
	14.502	C ₄ H ₆ O ₂	丁内酯 Butyrolactone	0.959
	14.955	C ₆ H ₈ O ₂	5-甲基-2-呋喃甲醇 5-methyl-2-Furanmethanol	0.181
	15.182	C ₅ H ₄ O ₃	3-甲基-2,5-呋喃二酮 3-methyl-2,5-Furandione	0.339
	15.626	C ₅ H ₆ O ₂	2-羟基-2-环戊烯-1-酮 2-Cyclopenten-1-one,2-hydroxy	0.842
	15.626	C ₅ H ₆ O ₂	1,2-环戊二酮 1,2-Cyclopentanedione	0.842
	15.730	C ₄ H ₄ O ₂	2(5H)-呋喃酮 2(5H)-Furanone	0.358
	17.498	C ₆ H ₆ O ₃	甲基麦芽酚 Maltol	0.769
	17.594	C ₆ H ₆ O	苯酚 Phenol	0.376
	17.646	C ₅ H ₄ O ₃	2H-吡喃-2,6(3H)-二酮 2H-Pyran-2,6(3H)-dione	0.370
	17.838	C ₆ H ₈ O ₃	4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	0.958
	18.726	C ₄ H ₈ O	羟甲基环丙烷 Cyclopropylcarbinol	3.195
	19.231	C ₄ H ₆ O ₃	2-羟基-丁酸酮 2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	2.192
	19.919	C ₆ H ₈ O ₄	2,3-二氧-3,5-二羟-6-甲基-4H-吡喃-4-酮 4H-Pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl	1.986
	20.572	C ₄ H ₁₀ N ₂ O	N-亚硝基-N-甲基-N-丙胺 N-methyl-N-nitroso-2-Propanamine	1.043
	21.182	C ₇ H ₆ O ₂	苯甲酸 Benzoic acid	32.631
	21.983	C ₆ H ₆ O ₃	5-羟甲基糠醛 5-(hydroxymethyl)-2-Furancarboxaldehyde	8.964
	22.166	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	2-羟基-6-甲基-3-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮 2-hydroxy-6-methyl-3-(1-methylethyl)-2-Cyclohexen-1-one	1.249
	23.255	C ₄ H ₆ O ₃	(+/-)-3-羟基-r-丁内酯 dihydro-4-hydroxy-2(3H)-Furanone	0.899
	26.782	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	n-十六酸 n-Hexadecanoic acid	0.916
	32.738	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	顺式-十八碳烯酸 trans-13-Octadecenoic acid	1.154
	34.602	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚麻酸 Linoleic acid	0.814

由表 2 可知,6 种有机化合物中相对含量较高 的物质依次为:乙酸(66.661%)、甲酸(25.996%)、

乙 酰 (2.399%)、苯 酚 (2.217%)、苯 甲 酸 甲 酯 (1.795%),其他成分的相对含量都在 1%以下。

2.4.2 乙酸乙酯组分中各成分的鉴定 利用 GC-MS 鉴定凤丹种子胚乳乙酸乙酯组分萃取液的主要成分,从中共分离出 16 个峰,将各峰经质谱扫描后的质谱图,用质谱计算机数据系统检索并与标准图谱进行核对,从离子流程图(图 3)中选择出峰面积

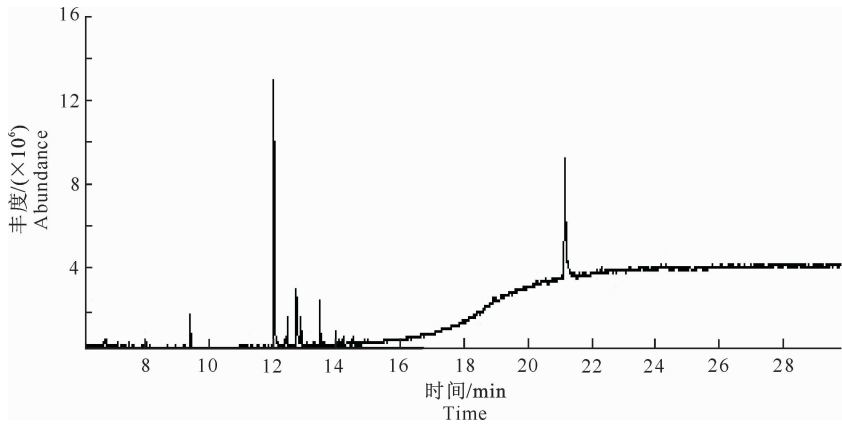


图 3 凤丹胚乳乙酸乙酯组分的 GC-MS 鉴定图谱

Fig. 3 GC-MS spectrum of ethyl acetate components in *Paeonia ostii* endosperm

2.4.3 甲醇组分中各成分的鉴定 利用 GC-MS 鉴定凤丹种子胚乳甲醇组分萃取液的主要成分,从中共分离出 38 个峰,将各峰经质谱扫描后的质谱图,通过质谱计算机数据系统检索并与标准图谱进行核对,从离子流程图(图 4)中选择出峰面积和相似度较大的有机化合物 33 种(表 2)。其中相对含量较高的物质依次为:苯甲酸(32.631%)、1,3-二羟基丙酮(10.997%)、5-羟甲基糠醛(8.964%)、乙酸

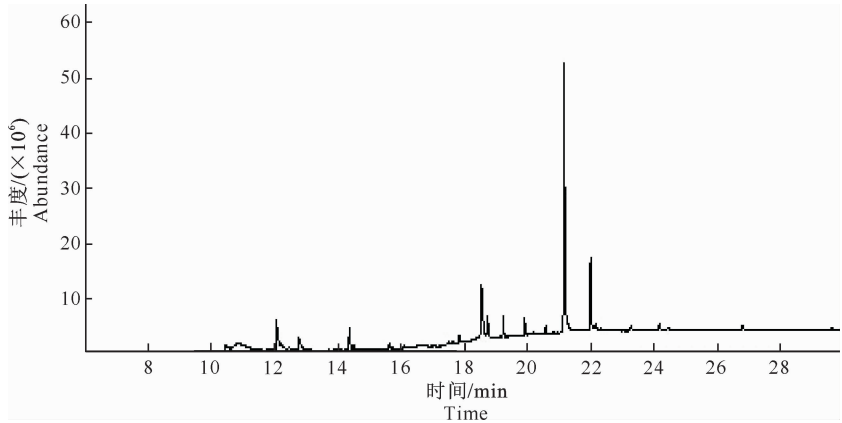


图 4 凤丹胚乳甲醇组分的 GC-MS 鉴定图谱

Fig. 4 GC-MS spectrum of methanol components in *Paeonia ostii* endosperm

由表 2 可知,凤丹种子胚乳乙醚相萃取液中检测到的化合物为有机酸类、酯类、醚类,乙酸乙酯相萃取液中检测到的化合物为有机酸类、酯类、酚类、烷烃类,甲醇相萃取液中检测到的化合物主要为有

和相似度较大的有机化合物 11 种(表 2)。其中相对含量较高的物质依次为:乙酸(56.343%)、甲酸(14.772%)、DL-3-乙基乙酸丁酸酯(6.266%)、乙 酰 (4.834%)、2,3-二乙基丁二酸(4.608%)、18-冠-6-醚(2.787%)、1-丙酯乙酸(1.907%)、苯甲酸甲酯(1.696%)、丁二酸二乙酯(1.202%),其他成分的相对含量都在 1%以下。

(5.751%)、甲 酸 (3.351%)、羟 甲 基 环 丙 烷 (3.195%)、2-呋喃甲醇(2.842%)、羟基丙酮(2.429%)、2-羟基-丁酸酮(2.192%)、丙酸-2-氧-甲酯(1.997%)、2,3-二氧-3,5-二羟-6-甲基-4H-吡喃-4-酮(1.986%)、2-羟基-6-甲基-3-(1-甲基)-2-环己烯-1-酮(1.249%)、3-糠醛(1.184%)、顺式-十八碳烯酸(1.154%)、N-亚硝基-N-甲基-N-丙胺(1.043%),其他成分的相对含量都在 1%以下。

机酸类、酯类、酮类、醇类、酚类等。在从凤丹种子胚乳浸提液内检测到的 43 种化合物中,各类化合物含量较大的依次为:有机酸类(如乙酸、苯甲酸、甲酸等)、酯类(如 DL-3-乙基乙酸丁酸酯、丙酸-2-氧-甲

酯、苯甲酸甲酯、丁二酸二乙酯等)、酮类(如羟基丙酮、2-羟基-丁酸酮、2-羟基-丁酸酮等)、酚类(如苯酚、甲基麦芽酚)、醇类(如 2-呋喃甲醇、5-甲基-2-呋喃甲醇等)。

3 讨 论

植物种子中含有一些化学物质,这些物质通过阻碍种子吸水、抑制呼吸、抑制酶活性、阻碍种胚生长等,对种子萌发起抑制作用^[13]。要确定这类化学物质是否存在,通常采用提取其成分并对非休眠植物种子做生物测定来判断。本试验通过凤丹离体胚萌发试验证实,所用种子种胚本身无休眠特性,用系统溶剂法分离凤丹胚乳中内源抑制物质,并测定其生物活性,结果表明,胚乳中各有机溶剂组分对白菜种子发芽、苗高、根长生长和侧生根生长均有一定的抑制作用,抑制作用最强的是乙醚组分,其次是甲醇组分,这与前人研究结果^[8-9]基本一致。由此可推断,凤丹胚乳乙醚萃取液和甲醇萃取液中存在某些萌发抑制物质,且这些物质对白菜种子萌发和生长的抑制活性较强。但这些物质具体在种子萌发过程的哪个阶段发挥抑制作用还有待进一步研究。

覃逸明等^[14]在连续种植 4 年的栽培牡丹凤丹(*P. ostii* T.)根际中发现至少 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)。杨勇等^[15]研究了四川牡丹(*Paeonia decomposita* Hand. -Mazz.)胚乳浸提液对油菜种子与幼苗生长的影响,推测四川牡丹胚乳中的内源抑制物质可能是有机酸和酚类物质。宋会兴等^[16]研究了四川牡丹种子内源抑制物质的活性,推测四川牡丹种子胚乳浸提液中可能含有多酚类化合物,这些物质影响了受体白菜幼苗保护酶的活性。周理平等^[17]研究了紫斑牡丹种子浸提液对油菜种子萌发的影响,发现紫斑牡丹种子中含有某些影响油菜种子发芽的物质。但这些研究均未对牡丹种子中的抑制物质做进一步的分离鉴定,也未对牡丹种子中抑制物质所在部位及其抑制物质活性做系统深入的研究。本试验采用系统溶剂分离与 GC-MS 鉴定相结合的方法,从凤丹种子胚乳抑制作用优势组分中分离鉴定出多种化合物,主要为有机酸类、酮类、酯类、醛类、酚类、醇类等。其中有机酸类化合物有 11 种,相对含量较高的为乙酸、甲酸、苯甲酸等;酯类化合物有 7 种,相对含量较高的为 1,3-二羟基丙酮、DL-3-乙基乙酸丁酸酯、丙酸-2-氧-甲酯、苯甲酸甲酯、丁二酸二乙酯等;酮类化合物有 12 种,相对含量较高的为羟

基丙酮、2-羟基-丁酸酮等;醛类化合物有 3 种,为 5-羟甲基糠醛、3-糠醛、5-甲基-2-糖醛;酚类化合物有 2 种,为苯酚、甲基麦芽酚;醇类化合物有 2 种,为 2-呋喃甲醇、5-甲基-2-呋喃甲醇;醚类化合物 2 种和烷烃类化合物 2 种及 1 种胺类化合物。在这些化合物中仅乙酸和苯甲酸的萌发抑制活性已被证实^[18-19],其他化合物的萌发抑制活性及其与种子休眠的关系需要采用标准品鉴定进一步证实。依据本试验中生物活性测定结果,可推断乙醚萃取液中鉴定出的化合物可能是导致凤丹种子萌发过程受抑制的主要物质。

[参考文献]

- [1] 洪德元,潘 开. 芍药属牡丹组的分类历史和分类处理 [J]. 植物分类学报,1999,37(4):351-368.
Hong D Y, Pan K. Taxonomical history and revision of *Paeonia* sect. Moutan (Paeoniaceae) [J]. Acta Phytotaxonomica Sinica, 1999, 37(4): 351-368. (in Chinese)
- [2] 覃逸明,黄雨清,王 千,等. 不同处理对凤丹种子萌发的影响 [J]. 中国种业,2009(1):38-40.
Qin Y Y, Huang Y Q, Wang Q, et al. Effects of different treatments on seed germination of *Paeonia ostii* [J]. China Seed Industry, 2009(1): 38-40. (in Chinese)
- [3] 郑相穆,周阮宝,谷丽萍,等. 凤丹种子的休眠和萌发特性 [J]. 植物生理学通讯,1995,31(4):260-262.
Zheng X M, Zhou R B, Gu L P, et al. The properties of dormancy and germination of *Paeonia suffruticosa* [J]. Plant Physiology Communications, 1995, 31(4): 260-262. (in Chinese)
- [4] 林松明,徐迎春,蔡志仁,等. 打破凤丹种子上胚轴休眠的研究 [J]. 江苏农业科学,2006(1):84-86.
Lin S M, Xu Y C, Cai Z R, et al. Study on breaking seed dormancy of epicotyl of *Paeonia ostii* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2006(1): 84-86. (in Chinese)
- [5] 景新明,郑光华,洪德元. 栽培牡丹的种子萌发和贮藏特性 [J]. 植物生理学通讯,1995,31(4):268-270.
Jing X M, Zheng G H, Hong D Y. Characteristic of germination and storage of seed in cultural *Paeonia suffruticosa* [J]. Plant Physiology Communications, 1995, 31(4): 268-270. (in Chinese)
- [6] Ka E A A. 种子休眠和萌发的生理生化 [M]. 北京:中国农业出版社,1989:37-40.
Ka E A A. Seed dormancy and germination physiology and biochemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1989: 37-40. (in Chinese)
- [7] 肖志成. 三角槭种子休眠机理及解除方法的研究 [D]. 南京:南京林业大学,2006:6.
Xiao Z C. A study on seed dormancy mechanism and the method of overcoming dormancy of *Acer buergerianum* Miq [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006: 6. (in Chinese)
- [8] 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.

Zhang Y J. Studies on seed dormancy mechanism of *Taxus chinensis* var. *mairei* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2007. (in Chinese)

[9] 韩宝瑞,徐凌志. 西洋参果实中发芽抑制物质研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7302-7304.

Han B R, Xu L Z. Study on the germination inhibitors in the fruit of *Panax quinquefolium* [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2010, 38(14): 7302-7304. (in Chinese)

[10] 杨晓玲,郭守华,蔡爱军,等. 4 种山楂种子中抑制物质活性的比较 [J]. 经济林研究, 2010, 28(1): 78-81.

Yang X L, Guo S H, Cai A J, et al. Comparison among inhibitor activities in four kinds of *Crataegus pinnatifida* Bge seeds [J]. Nonwood Forest Research, 2010, 28(1): 78-81. (in Chinese)

[11] 周仁超,姚崇怀,潘俊,等. 紫斑牡丹种子休眠和萌发特性初步研究 [J]. 湖北农业科学, 2002(1): 59-60.

Zhou R C, Yao C H, Pan J, et al. Studies on characteristics of dormancy and germination of *Paeonia rockii* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2002(1): 59-60. (in Chinese)

[12] 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.

Huang Y G, Cui S Y, Lu Q, et al. Growth inhibitors in American ginseng seed [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 1994, 16(2): 9-14. (in Chinese)

[13] 熊愈辉. 发芽抑制物质研究综述 [J]. 湖州师专学报, 1998, 20(5): 25-31.

Xiong Y H. Summaziation of the studies on germination inhibitor [J]. Journal of Huzhou Teachers College, 1998, 20(5): 25-31. (in Chinese)

[14] 覃逸明,聂刘旺,黄雨清,等. 风丹自毒物质的检测及其作用机制 [J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1153-1161.

Qin Y M, Nie L W, Huang Y Q, et al. Detection of *Paeonia osii* autotoxins and their mechanism [J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(3): 1153-1161. (in Chinese)

[15] 杨勇,刘光立,宋会兴,等. 四川牡丹胚乳浸提液对油菜种子与幼苗生长的影响 [J]. 西南农业学报, 2013, 26(1): 89-92.

Yang Y, Liu G L, Song H X, et al. Effects of *Paeonia decomposita* endosperm extracts on seeds germination and seedling growth of *Brassica campestris* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2013, 26(1): 89-92. (in Chinese)

[16] 宋会兴,刘光立,高素平,等. 四川牡丹种子浸提液内源抑制物质活性初探 [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 Horticulturae Sinica, 2012, 39(2): 370-374. (in Chinese)

[17] 周理平,夏欢,尹定森. 紫斑牡丹种子浸提液对油菜种子萌发的影响 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(25): 15245-15246.

Zhou L P, Xia H, Yin D S. Effects of crude extracts of *Paeonia rockii* seeds on germination of rapeseeds [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2011, 39(25): 15245-15246. (in Chinese)

[18] 韩宝瑞,李向高,黄耀阁. 西洋参果肉中发芽抑制物质研究 [J]. 特产研究, 1999(3): 11-13.

Han B R, Li X G, Huang Y G. Study on germination inhibitors in American ginseng fruit [J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 1999(3): 11-13. (in Chinese)

[19] 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. (in Chinese)