

核桃坚果内源抑制物质特性的初步研究

贾彩霞¹, 翟梅枝¹, 蔺林田², 张 檀¹

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 杨凌职业技术学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以核桃坚果中内果皮和种仁(种皮、胚、子叶)提取液为试材,研究了核桃内源抑制物质对白菜与小麦种子萌发和幼苗生长的影响,比较分析了流水冲洗和温水浸泡去除抑制物质的效果。结果表明:核桃坚果中存在较强活性的内源抑制物质,其活性随提取液浓度的增大而增强,相同浓度水平时,种仁中抑制物质活性大于内果皮。溶于乙醚的抑制物质纸层析分离后在 R_f 1.0 区段活性最强;溶于水的抑制物质纸层析分离后分别位于 R_f 0.1 和 R_f 0.9 区段活性最强,说明种仁中抑制物质有易溶于水的成分,也有易溶于乙醚的成分,并且水溶性物质对种子萌发和幼苗生长的抑制活性更强;流水冲洗和 40℃ 温水浸泡可除去部分内源抑制物质。

关键词:核桃坚果;内源抑制物质;纸层析; R_f 值;温水浸泡

中图分类号:S 664.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0004-04

核桃(*Juglans regia* L.)属胡桃科胡桃属落叶乔木,在我国栽培历史悠久,分布很广且资源十分丰富。目前,随着核桃种植面积的迅速扩大,种苗生产已经成为

核桃产业发展中的重要环节。但是,在核桃苗木培育中,播种前需经一定的预处理种子才能萌发^[1-3]。相关文献^[4-5]中已有报道,核桃内果皮和种仁中存在抑制物质。该试验对核桃坚果内源抑制物质的特性和去除抑制物质的方法进行了研究,以期寻求在实际生产中去除抑制物质的最佳方法,为核桃苗木生产中使用合适的种子预处理方法提供理论依据。

第一作者简介:贾彩霞(1965-),女,高级实验师,现主要从事林木和经济林木种苗生理特性等研究工作。E-mail:lxjcx@nwsuaf.edu.cn.

责任作者:翟梅枝(1963-),女,博士,教授,现主要从事林源植物副产品活性成分药用研究及经济林良种选育和丰产栽培技术研究工作。E-mail:plum-zhai@163.com.

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(30972315)。

收稿日期:2013-07-25

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试核桃(*Juglans regia* L.)坚果为市售的当年优质“新新 2 号”、“温 185”等核桃品种,将核桃坚果打开

Study on Fruit Development Dynamic of Long-stalk Pear During the Early Stage

SONG Jian-kun, ZONG Yu, WANG Ran

(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Taking long-stalk pear as material, fruit development index including fruit vertical diameter and transverse diameter, weight and bulk, the content of soluble solids and titratable acid, the stone cell size and the number of stone-cell groups and so on were detected through measuring in the field, acid-base titration and slice observation during the early stage of fruit development of long-stalk pear. The results showed that during 20~40 days after blossom both the fruit vertical diameter and transverse diameter gradually increased, but the fruit transverse diameter increased faster than the fruit vertical diameter, which resulted in the decrease of fruit shape index; fruit weight and bulk also increased during the stage, and fruit bulk increased slowly, while fruit weight increased obviously; the content of soluble solids showed the trends of increasing, titratable acid content declined gradually, and the ratio between content of soluble solids and titratable acid continuously increased; the vertical diameter and transverse diameter of stone cells in the pulp increased gradually along with fruit enlargement, but the number of stone cell group did not change prominently.

Key words: long-stalk pear; fruit development; content of sugar and acid; stone cell

后,分别收集核桃内果皮和种仁,核桃内果皮粉碎后,过40目筛,装入密封容器,核桃种仁切成小碎块用石油醚在室温下脱脂和去色素3次(每次24h),在自然条件下将石油醚完全挥发,放在研钵中研磨成粉状,装入密封容器,材料均在4℃下冷藏。生物测定采用市售白菜种子(*Brassica campestris* L.)和小麦种子(*Triticum aestivum* L.)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同部位提取液的制备 按参考文献[6]的方法,分别称取80g备用的核桃内果皮和种仁,加入10倍体积的蒸馏水,置于56℃的条件下浸提24h后过滤,残渣再按上述方法浸提2次,合并3次滤液,在56℃条件下浓缩成一定体积并定容至200mL,制备成浓度为0.40g/mL(1.0mL提取液含材料的质量数)的提取液。

1.2.2 抑制物质的活性测定 按参考文献[7]的方法用白菜种子测定提取液活性。提取液设0.02、0.04、0.08、0.12、0.16g/mL5个浓度梯度处理,以蒸馏水为对照。在铺有2层滤纸的9cm培养皿中分别加入不同质量浓度提取液6.0mL,均匀摆放50粒白菜种子,25℃恒温条件培养。

1.2.3 核桃种仁乙醚萃取液和萃余液制备及纸层析和各区段活性测定 按参考文献[8]的方法,将核桃种仁提取液用乙醚萃取,得到乙醚萃取液和萃余液,分别定容至200mL,用上行层析法进行纸层析,层析滤纸为“新华1号”,层析纸宽6cm,长15cm,用10μL微量进样器沿层析纸点样线进行点样,每张层析纸点样量相同,分5次进行,每次点液柱高1cm,待干燥后,再点下一次,当展开剂前沿距点样线15cm时结束层析。晾干层析纸,将层析纸按 R_f 值不同剪成10段(每段1.5cm),每段再平分3小段,分别放入9cm的培养皿中,铺2层滤纸,加入6.0mL蒸馏水进行生物测定。

1.2.4 流水冲洗去除抑制物质方法研究 按参考文献[9]的方法,各取100个核桃坚果,用纱布包好,放在自来水下冲洗,每隔3d取1份,共得到5个样品,将样品分别制备成内果皮和种仁浓度为0.40g/mL的提取液各100mL,以浓度0.1g/mL为标准用小麦种子进行生物测定。

1.2.5 用水浸泡坚果去除抑制物质方法研究 按参考文献[9-10]的方法,各取40g左右核桃果实放在250mL三角瓶中,加入100mL蒸馏水浸泡,用塑料膜密封,分别在25℃室温和40℃温水条件下放置48h,摇匀后抽取6.0mL,以此为1号浸泡液,倒出余下浸泡液,再加入100mL蒸馏水浸泡,重复7次,用小麦种子做生物活性测定。

1.3 数据分析

每处理测定3次,数据采用Excel 2003和SPSS

13.0软件进行统计分析,活性测定48h统计种子发芽率,72h测量幼芽(根)的长度。相对发芽率(%)=处理发芽率/对照发芽率 $\times 100\%$;相对芽(根)长(%)=处理芽(根)长度/对照芽(根)长度 $\times 100\%$;抑制率(%)=[(对照芽(根)长度-处理芽(根)长度)/对照芽(根)长度] $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 核桃坚果不同部位提取液对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

由表1可知,核桃坚果不同部位的提取液对白菜种子萌发和幼苗生长均有一定的抑制作用,随着提取液浓度的增大,对白菜种子萌发和幼苗生长的抑制活性明显增强。内果皮提取液除质量浓度为0.08g/mL与0.12g/mL处理间对白菜种子相对发芽率的影响无显著差异($P>0.05$)外,其它各处理间均存在极显著差异($P<0.01$);内果皮提取液各质量浓度处理对白菜幼苗相对芽长和相对根长的影响均有极显著差异($P<0.01$)。而种仁提取液除质量浓度为0.12g/mL和0.16g/mL处理间对白菜种子萌发的影响无显著差异($P>0.05$)外,其它各处理间均有极显著差异($P<0.01$);种仁提取液各质量浓度处理对白菜幼苗相对芽长和相对根长的影响均存在极显著差异($P<0.01$)。由表1还可以看出,内果皮和种仁不同浓度提取液对幼苗生长的抑制活性大于对种子萌发的抑制活性,种仁中抑制物质活性大于内果皮中抑制物质活性。

表1 不同部位提取液对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

浸提部位 Parts	质量浓度 Mass concentration /g·mL ⁻¹	相对发芽率 Relative germination rate/%	相对芽长 Relative bud length/%	相对根长 Relative root length/%
内果皮 Endocarp	0.02	97.2±1.9A	94.7±1.2A	92.5±1.3A
	0.04	92.8±1.3B	80.5±1.5B	77.4±1.2B
	0.08	87.9±1.2Cc	65.2±1.2C	63.7±1.2C
	0.12	85.3±0.8Dc	40.8±2.6D	42.3±1.5D
	0.16	83.2±0.9Dd	32.6±1.0E	31.9±1.1E
种仁 Kernel	0.02	94.3±1.2A	79.1±1.4A	78.5±1.4A
	0.04	84.7±1.2B	73.8±1.1B	71.0±2.7B
	0.08	65.2±1.3C	66.3±0.6C	58.9±2.0C
	0.12	41.7±2.5Dd	45.0±1.6D	41.2±1.7D
	0.16	38.5±0.8Dd	21.5±1.2E	18.9±1.5E

2.2 核桃种仁中不同极性物质对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

对核桃种仁提取液的乙醚萃取物进行纸层析,层析后分段进行生物测定,由图1可知,乙醚萃取物纸层析的不同层析段对种子萌发和幼苗生长的抑制活性不同。在 R_f 1.0区段对白菜种子萌发和幼苗生长的抑制活性最强,发芽率、芽长、根长的抑制率分别为25.0%、

37.6%、38.2%。比较各层析段对幼苗生长的抑制作用可知,乙醚萃取物对幼芽生长的抑制作用大于对幼根生长的抑制作用。

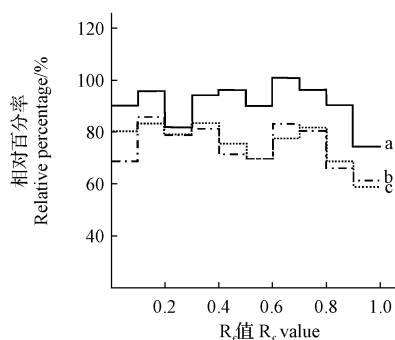


图1 乙醚萃取液纸层析各区段对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

注:a.发芽率;b.芽长;c.根长。图2同。

Fig. 1 Effects of each section from paper chromatography of aether extract on seeds germination and seeding growth of Chinese cabbage

Note:a. Germination rate; b. Bud length; c. Root length. The same as Fig. 2.

对乙醚萃取后的萃取水采用相同的方法进行纸层析并分段生物测定,由图2可以看出,萃取水相中极性物质经纸层析展开后,不同区段对种子萌发和幼苗生长的抑制活性不同,在 R_f 0.1区段对种子萌发的抑制活性最强,抑制率为39.0%;在 R_f 0.9区段对幼芽和幼根生长的抑制活性最强,抑制率分别为42.1%和48.3%。比较各层析段对幼苗生长的抑制作用得知,萃取水相对幼根生长的抑制作用大于对幼芽生长的抑制作用。

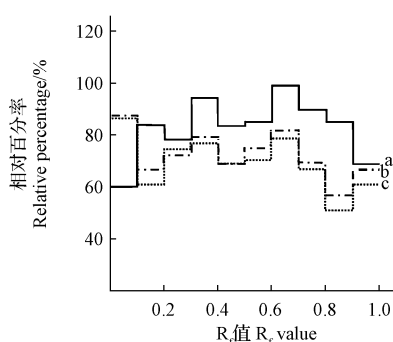


图2 萃取水相纸层析各区段对白菜种子萌发和幼苗生长的影响

Fig. 2 Effects of each section from paper chromatography of ingredient soluble in water on seeds germination and seeding growth of Chinese cabbage

由以上分析可知,核桃种仁提取液的乙醚萃取相和萃取水相对种子萌发和幼苗生长都有抑制作用,但抑制作用的大小因抑制物质的种类和含量而异。这也

说明核桃种仁中的抑制物质有2类,1类为水溶性较强的极性物质,另1类则是易溶于乙醚的非极性物质。比较2类物质对白菜种子萌发和幼苗生长的影响发现,其乙醚萃取液的抑制活性小于萃取水相的抑制活性。由此说明,核桃种仁中水溶性物质的抑制作用较强,与贾彩霞等^[4]的研究结果相同,这为提高核桃出苗率奠定了理论基础。

2.3 去除抑制物质方法研究

2.3.1 流水冲洗后坚果不同部位提取液的抑制活性

由表2可知,随着流水冲洗时间的延长,核桃内果皮和种仁提取液的抑制活性逐渐减弱。与生产上常用的冲洗8~10 d比较来看,冲洗15 d后的果实,其内果皮和种仁提取液对小麦种子萌发的抑制率分别为4.1%和12.8%,对幼芽生长的抑制率分别为12.3%和30.8%,对幼根生长的抑制率分别为10.9%和32.4%。因此,在生产中应适当延长流水冲洗的时间以提高核桃的出苗速度、出苗率和整齐度,为核桃生产提供优质壮苗。

表2 流水冲洗不同时段后提取液对小麦种子萌发和幼苗生长的抑制作用

Table 2 The inhibition of extract from walnut which was treated with flowing water on seeds germination and seeding growth of wheat

流水冲洗时间 Water flushing time/d	抑制率 Inhibition rate/%					
	内果皮提取液 Endocarp extracting solution			种仁提取液 Kernel extracting solution		
	种子萌发 Seed germination	芽长 Bud length	根长 Root length	种子萌发 Seed germination	芽长 Bud length	根长 Root length
3	11.1	38.2	36.5	25.7	45.3	49.7
6	9.9	35.1	32.8	22.2	42.7	45.1
9	7.8	29.9	22.4	18.9	38.9	40.3
12	5.4	21.7	17.1	15.4	34.1	35.9
15	4.1	12.3	10.9	12.8	30.8	32.4

2.3.2 核桃坚果不同水温浸泡液的抑制活性比较

由表3可知,40℃温水浸泡液各批次的抑制活性均

表3 室温水、温水(40℃)不同批次浸泡液对小麦种子萌发及幼苗生长的抑制作用

Table 3 The inhibition of room temperature and warm water from soaked walnut on seeds germination and seeding growth of wheat

浸泡液批次 Soak solution	抑制率 Inhibition rate/%					
	室温水 Room temperature water			温水(40℃) 40℃ water		
	种子萌发 Seed germination	芽长 Bud length	根长 Root length	种子萌发 Seed germination	芽长 Bud length	根长 Root length
1	8.0	9.8	9.2	10.5	11.9	11.7
2	9.0	11.4	10.8	11.5	12.3	12.0
3	10.8	13.2	12.4	12.7	13.7	13.5
4	6.1	9.6	7.8	7.9	9.5	8.3
5	5.2	6.8	6.6	5.9	8.7	7.6
6	4.0	5.7	5.4	5.5	6.0	6.3
7	2.6	3.5	3.2	3.4	5.5	5.1

大于室温水浸泡液的抑制活性。2种温度处理前3批次浸泡液的抑制活性逐渐增强,第3批(6 d)的抑制活性最高,此后逐渐减弱。由此得知,核桃坚果在浸泡过程中,抑制物质的浸出速度与水温 and 浸泡时间密切相关,这为生产上用温水浸种 6~7 d 提供了充分的理论依据。

3 结论与讨论

自然界中许多植物如红松、池杉、北五味子、刺五加、红豆杉等种子都含有内源抑制物质,植物种子中存在萌发抑制物质是导致种子休眠的一个主要因素,有的萌发抑制物是造成种子休眠的根本原因,有的则通过间接作用引起种子休眠^[11]。结合文献报道和该研究结果可以发现,核桃内果皮和种仁中含一定活性的内源抑制物质,当提取液浓度低时,这种抑制作用较小,但随着提取液浓度的增加,抑制物质成分含量增加,抑制作用明显增强。核桃坚果内源抑制物质是否是核桃休眠和萌发困难的主要原因,以及抑制物质的抑制方式和作用机理还有待于进一步研究。

核桃种仁中抑制物质有易溶于水的成分,也有易溶于乙醚的成分,其中,水溶性物质对种子萌发和幼苗生长的抑制作用更强,与贾彩霞等^[4]的研究结果一致。且易溶于水的抑制物质纸层析分离后 R_f 0.1 区段对白菜种子萌发抑制活性最强, R_f 0.9 区段对白菜幼苗生长的抑制活性最强;溶于乙醚的抑制物质纸层析分离后 R_f 1.0 对白菜种子萌发和幼苗生长的抑制活性最强,此结论为进一步研究内源抑制物质种类和确定分

离、纯化方法奠定了基础。

核桃播种育苗中,种子预处理常采用流水冲洗法和室温水浸泡法。该试验研究结果表明,核桃坚果用 40℃ 温水浸泡效果更好,浸泡不仅使内果皮开裂,提高其吸水、透气性能,最重要的作用在于温水浸种可浸出大量抑制物质,从而降低内源抑制物质对核桃萌发和幼苗生长的抑制作用。

参考文献

- [1] 郝荣庭,张毅萍. 中国果树志·核桃卷[M]. 北京:中国林业出版社,1995:1-18.
- [2] 郝艳宾,刘军,刘佳梦. 核桃栽培技术问答[M]. 北京:中国农业出版社,1998:1-7,12-15.
- [3] 张开春. 果树育苗手段[M]. 北京:中国农业出版社,2000:2-6.
- [4] 贾彩霞,翟梅枝,宋艳枝. 核桃壳内源抑制物质活性的初步研究[J]. 西北林学院学报,2006,20(3):98-100.
- [5] 曲芬霞,姚霞珍,郭建斌,等. 西藏核桃休眠及萌发特性研究[J]. 种子,2011,30(3):44-46.
- [6] 王炎,赵敏,俞佳林. 北五味子种子休眠特性及内源抑制物质的研究[J]. 中国中药杂志,1997,22(1):10-14.
- [7] 赵敏,王炎,康莉. 刺五加果实及种子内源萌发抑制物质活性的研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(8):534-537.
- [8] 赵敏,王炎,张伟. 北五味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.
- [9] 赵敏,王炎,张伟. 北五味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.
- [10] 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.
- [11] 孙佳,郭江帆,魏朔南. 植物种子萌发抑制物质物质概述[J]. 种子,2012,31(4):57-61.

Preliminary Study on the Characteristics of Endogenous Inhibitory Substances for Walnut

JIA Cai-xia¹, ZHAI Mei-zhi¹, LIN Lin-tian², ZHANG Tan¹

(1. College of Forestry, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Yangling Vocational and Technical College, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Taking walnut endocarps and seeds (seed coats, cotyledons and embryo) as materials, the effect of endogenous inhibitors on seeds germination and seeding growth of Chinese cabbage and wheat were studied, and the two methods of removing inner inhibitory substances that were soaking in warm water and washing with flowing water were compared. The results showed that there were endogenous inhibitors with higher activities in walnut seeds. And increasing of the concentration of endogenous inhibitors would enhance the inhibitory effect. The inner inhibitory substances from kernels showed stronger inhibitory effect than endocarps. The highest zone of paper chromatography of ether extraction of endogenous inhibitory substances was R_f 1.0; the highest zones of paper chromatography of remained liquid after extraction with ether were R_f 0.1 and R_f 0.9. This demonstrated that endogenous inhibitors of walnut seeds consisted of not only ingredient easily soluble in water, but also those easily soluble in non-polar ether solvent. And water dissolved inner inhibitors showed stronger inhibitory effect on seeds germination and seeding growth. The endogenous inhibitory substances could be partly removed by soaking in warm water (40℃) or washing with flowing water.

Key words: walnut; inner inhibitory substances; paper chromatography; R_f value; nut soaking in warm water