

团花种子中抑制物质的初步研究 I

陈耀武 邓万华*

团花 (*Anthocephalus chinensis* (Lamk.) Rich. et. Walp.) 是一种重要的热带速生用材树种。目前已引起国内外林业部门的重视。但种子的休眠和休眠的控制则未见报导。我们曾证明过刚采下的种子是有休眠的。它可用赤霉素和低温层积处理来克服;并用种子水提取液对水稻种子萌发试验证明有抑制作用^[1]。为此我们进一步对抑制物质进行提取,分离和鉴定,证明是脱落酸。现将结果陆续报导。

一, 材料和方法

我们选用已知含脱落酸的油梨果实和种子 (*Persea americana* Mill.)^[2]和未知样品蛋黄果 (*Lucuma nervosa* A. DC.), 团花种子进行比较。油梨和蛋黄果于1981年本所采收,把果实种子分别切片晒干磨细,放入干燥器中备用。团花用种子干粉。

1. 提取按P. F. Saunders^[3]和王文章^[4]等方法加以改进。称取油梨果肉、种子样品各100克,蛋黄果107克,团花种子1000克,分别放入大三角瓶中,加二倍体积80%的甲醇,为防止甲醇分解作用再加入少量丙酮使提取液丙酮含量为1%,放在4℃冰箱中过夜,取出过滤。如此提三次、合并滤液在60℃下减压蒸干以除去甲醇,残余物用蒸馏水溶解后加NaHCO₃调pH 8,用石油醚提三次,除去一些酯类物质。水相用2N HCl调pH 2,用等量乙醚提三次得酸性乙醚 I,水相弃去。乙醚相用2% NaHCO₃提三次,乙醚相在40℃减压蒸干得碱性乙醚 I,NaHCO₃相用2N HCl调pH 2用乙醚提三次得酸性乙醚 I,NaHCO₃相弃。乙醚相用5% NaHCO₃提三次,乙醚相蒸干得碱性乙醚 I,NaHCO₃相用2N HCl调pH 2,用乙醚提三次,蒸干乙醚得酸性乙醚 II,NaHCO₃弃去。酸性乙醚 II取出部分作薄层分离后生物鉴定用。另一部分用柱层析等纯化其他测定用。如表1程序。

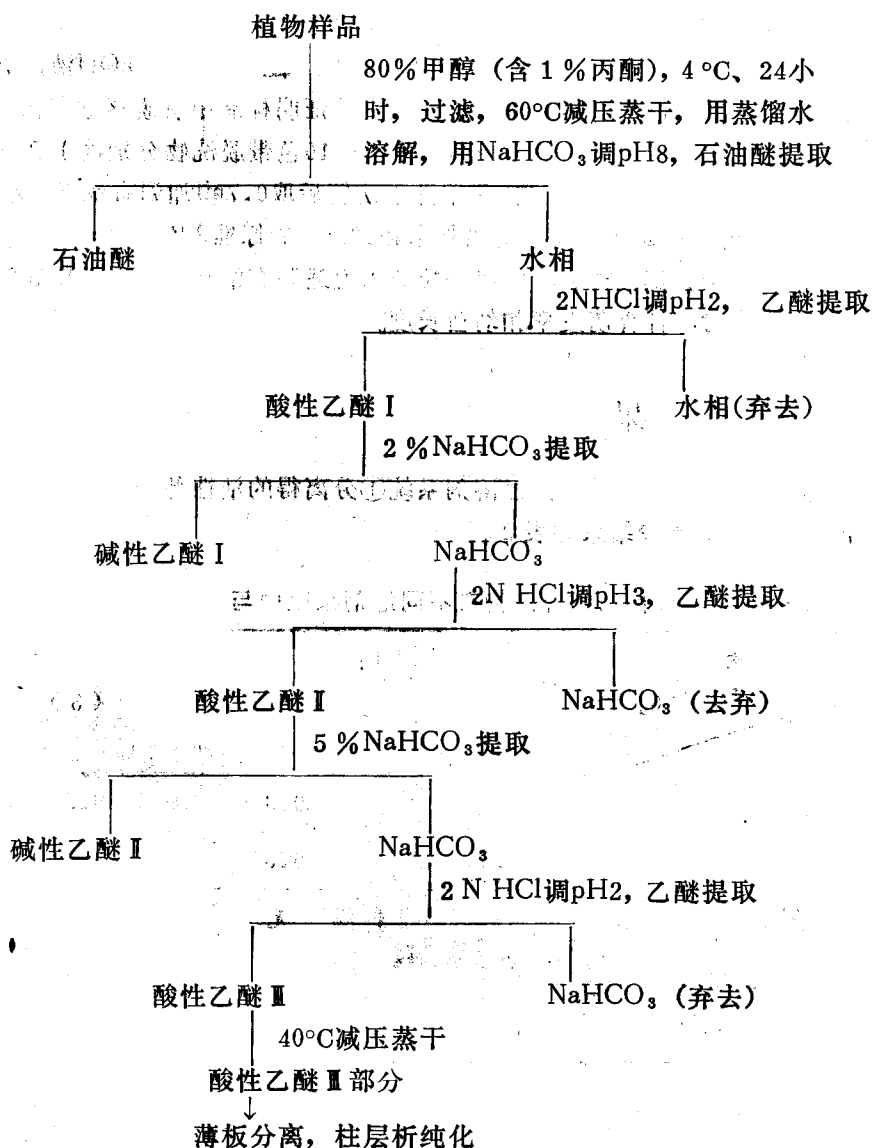
2. 硅胶制备性薄板分离和鉴定

取硅胶GF₂₅₄₊₃₀₀ (上海萤光化学厂生产) 1克加3 ml水调匀铺12×12cm板,凉干后在110℃烘箱中活化30分钟取出备用。展开剂为①苯:乙酸乙酯:醋酸(14:6:1),②苯:乙酸乙酯:醋酸(30:5:2),③正丁醇:水:氨水(86:14:1)。分离在溶剂系统①中展开后于254nm紫外分析仪(上海科艺光学仪器厂出)下检测,将各色带

* 参加工作还有杨伶、安枫。

表 1

抑制物质提取程序



分别刮下用乙醚洗脱蒸干。分别取出少量作生物鉴定和薄板鉴定和显色反应。

薄板鉴定: 将有抑制活性部位的成份取出经进一步纯化后, 在硅胶 GF₂₅₄+366 板上点样, 与标准 ABA (Fluka AG, Chemische Fabrik CH-9470, Buchs SG ABSCISIC ACID) 作对照, 分别在溶剂系统①, ②, ③中展开, 计算 R_f 值。

3. 脱落酸的定性显色鉴定

用 Mallaby 和 Byback^[5] 的方法进行脱落酸的特异显色反应来鉴定它的存在。其原理

是：脱落酸被酸所催化，脱水后变为一种中性的、不饱和的 γ -内酯，再用碱处理后立即显示出明显的紫红色，它可以持续几秒钟到几分钟(取决于内酯的含量和碱的浓度)，这种颜色随内酯的水解而消失。这是对脱落酸进行定性鉴定的有效方法。做法是：取少量甲酸：盐酸(20：3 V/V)于瓷蒸发皿中与检查样品混合，放在110°C的烘箱中作用10分钟，取出后加几滴用乙醇：水(1：1)配成的2N NaOH液，有明显的紫红色出现，不久就消失，与标准脱落酸的反应一致证明样品中有脱落酸存在。

4.生物鉴定：把制备性薄板分离的1—10色带脱洗物分别溶于2 ml甲醇溶液中，从中各取出0.2 ml蒸干溶剂，用2 ml重蒸水溶解后取0.7 ml加到有滤纸的小培养皿上(ϕ 5 cm)加重蒸水到2 ml体积。对照加水 and 10 ppm的标准ABA。

白菜种子为试验材料，各取20粒放入上述装有溶液的培养皿中在30°C恒温培养箱中暗萌发72小时，计算萌发率和幼苗长度。

二、结 果

1.硅胶薄层鉴定结果：经溶剂系统①分离得的活性部分在①、②、③溶剂系统中展开与标准ABA比较结果如表2。

表2 各种植物分离物在不同溶剂系统中与标准ABA相应的Rf值

Rf 溶剂系统		(1)	(2)	(3)
材 料				
油	果 肉	0.5	0.3	0.5
梨	种 子	0.5	0.3	0.4
蛋 黄 果		无	无	无
团 花 种 子		0.5	0.3	0.4
标 准 ABA		0.5	0.3	0.4

从三个溶剂系统薄层鉴定可知，油梨果实和团花种子含脱落酸类物质的Rf值与标准相同在系统①中为0.5，系统②中为0.3，系统③中为0.4—0.5。

2.脱落酸的显色反应：几种植物材料提取物经薄板分离得1—10各色带，脱洗后进行显色反应结果见表3。

由表3显色试验表明油梨果肉和种子以及团花种子中都有脱落酸存在。

3.生物鉴定：团花种子制备性薄层分离1—10各色带脱洗物经生物鉴定结果如表4。

生物鉴定表明色带6—7部分对白菜种子萌发和幼苗生长都有明显的抑制作用，其结果与标准ABA的作用相似。

表 3

不同植物材料薄板分离部分的显色反应

TLC 各色带 显色反应 材 料		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
油	果 肉	无	无	紫红	紫红	无	无	无	无	无	无
梨	种 子	无	无	无	无	无	紫红	紫红	无	无	无
蛋 黄 果		无	无	无	无	无	无	无	无	无	无
团 花 种 子		无	无	无	无	无	紫红	紫红	无	无	无
标 准 ABA		紫 红 色									

表 4

团花种子薄板分离各部分对白菜种子萌发的影响

TLC各部分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	CK	ABA
萌发率 (%)	100	100	100	100	100	0	55	100	100	100	100	0
幼苗长度(cm)	2.4	2.7	1.8	1.3	2.4	0	0.1	1.1	1.0	1.2	0.9	0

三、小 结

我们通过用油梨、蛋黄果和团花种子为材料进行生长抑制活性物质的提取、分离、鉴定的初步结果证明团花种子中含有脱落酸，它是控制种子休眠的物质之一。

参 考 文 献

- [1] 陈耀武等, 1981, 植物生理学通讯 (6) : 28.
- [2] Milborrow B.V, 1974b, Rev. Adv. Phytochem. (7); 57.
- [3] Saunders P.F. 1978, Isolation of plant growth Substances, 115.
- [4] 王文章等, 1980, 中国科学 (9) : 899.
- [5] Mallaby. R. & Ryback. G. J. C. S., Perkin I (1972) 919.