

## 多裂骆驼蓬的生物碱对黄瓜种子萌发的影响

刘建新<sup>1,\*</sup>, 胡浩斌<sup>2</sup>, 赵国林<sup>1</sup>

陇东学院<sup>1</sup> 生命科学系, <sup>2</sup> 化学与化工学院, 甘肃庆阳 745000

**摘要:** 经多裂骆驼蓬中生物碱处理过的黄瓜种子吸水量、呼吸速率、 $\alpha$ -淀粉酶活性、 $GA_{1+3}$  和 ATP 含量均下降, 种子膜透性增大, 丙二醛含量提高; 子叶中异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶活性以及超弱发光(UWL)值也受到明显抑制。其抑制或促进作用的程度均随着多裂骆驼蓬中生物碱浓度的提高而增强。

**关键词:** 多裂骆驼蓬; 生物碱; 黄瓜; 种子萌发

## Effects of Alkaloid of *Peganum multisectum* Bobr on Seed Germination of Cucumber (*Cucumis sativus* L.)

LIU Jian-Xin<sup>1,\*</sup>, HU Hao-Bin<sup>2</sup>, ZHAO Guo-Lin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Life Science, <sup>2</sup>College of Chemistry and Chemical Engineering, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China

**Abstract:** Effects of alkaloid of *Peganum multisectum* on seed germination of cucumber (*Cucumis sativus* cv. Jinchun No.3) were studied. The results indicated that alkaloid of *P. multisectum* markedly inhibited the water absorption, respiratory rate and  $\alpha$ -amylase activity of cucumber seeds,  $GA_{1+3}$  and ATP contents decreased, whereas malondialdehyde (MDA) content and membrane permeability increased. The inhibition of alkaloid of *P. multisectum* on isocitrate lyase and hydroxypyruvate reductase activities and ultraweak luminescence (UWL) of cucumber cotyledons were also distinct, and the promoting or inhibitory effects of alkaloid of *P. multisectum* were increased with the treated concentration increase.

**Key words:** *Peganum multisectum*; alkaloid; cucumber (*Cucumis sativus*); seed germination

多裂骆驼蓬为骆驼蓬属(*Peganum*)多年生草本植物。骆驼蓬属植物共6种,我国有3种,即骆驼蓬(*P. harmala*)、骆驼蒿(*P. nigellastrum*)和多裂骆驼蓬(*P. multisectum*),其中多裂骆驼蓬为我国特有种,主要分布在西北部的干旱荒漠地区,资源丰富(马骥和王勋陵 1998)。自1841年Goebel从骆驼蓬种子中分离出二氢骆驼蓬碱(Keith和Alna 1993)以来,人们对其活性成分的分离提取、结构鉴定、杀虫抑菌和药理作用等开展了研究,认为骆驼蓬属富含的多种生物碱是主要的活性成分(Di Giorgio等 2004; Sobhani等 2002; 潘启超等 1997),具有消炎(Sokmen和Vavdar-Unlu 2000)、抗癌(段金殿等 1998)、治疗帕金森氏病(Sourkes 2000)以及杀虫抑菌(刘建新等 2006; 翁群芳等 2005)的作用。我们曾观察到多裂骆驼蓬的提取物和生物碱对玉米、小麦、番茄种子的萌发和幼苗早期生长具有抑制作用,而对幼苗后期生长则有促进效应(刘建新和赵国林 2005; 刘建新等 2004,

2006)。但生物碱抑制种子萌发的机制仍不清楚。本文探讨多裂骆驼蓬的生物碱对黄瓜种子萌发过程中内源赤霉素( $GA_{1+3}$ )含量、乙醛酸循环体和过氧化物酶体中特异的异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶活性和超弱发光(ultraweak luminescence, UWL)的影响。

### 材料与方法

黄瓜品种‘津春3号’(*Cucumis sativus* L. cv. Jinchun No.3)种子购自甘肃省庆阳市种子公司。多裂骆驼蓬(*Peganum multisectum* Bobr)全株于2004年8月采自甘肃省环县,样品风干、粉碎过40目筛后保存备用。

多裂骆驼蓬中生物碱提取参照张学农等(1993)

收稿 2006-12-07 修定 2007-02-28  
资助 甘肃省教育厅科研基金(JYT0510-07)。

\* E-mail: liujx1964@163.com; Tel: 0934-8226017

的方法并略加改进。取粉碎的多裂骆驼蓬样品,以5倍于材料质量的85%乙醇溶液于85℃下回馏提取3次,每次1h,合并提取液,减压浓缩至稠膏状,以5%盐酸洗涤后过滤。滤液置于分液漏斗中,加1/3体积滤液量的氯仿,振摇,分层后弃去氯仿层,如此反复处理3次,处理后的酸液中再加入3倍体积的氯仿,充分振摇,迅速用氨水调pH至8~9,继续振摇3min,静置分层后取氯仿层,余液反复提取5~6次,合并氯仿液,回收氯仿后用盐酸洗涤,并以蒸馏水定容,用氨水调pH至6。此提取液即为多裂骆驼蓬中总生物碱的提取母液,浓度用每毫升溶液中材料的烘干重表示(单位为 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )。

做种子吸水试验时,选饱满、均一的黄瓜种子50粒,称其初始重量(1.60g)后放入50mL小烧杯中,分别加入10mL 0.05、0.10、0.20、0.30 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的多裂骆驼蓬的生物碱提取液,以蒸馏水为对照,置于温度为25℃的培养箱中萌发,每隔6h取一次种子,吸干表面水分,立即称重,按公式种子吸水量 $=[(\text{吸胀后种子重}-\text{吸胀前种子重})/\text{吸胀前种子重}]\times 100\%$ 计算。每处理重复5次。

做培养试验时,将饱满健康的黄瓜种子用0.1% $\text{HgCl}_2$ 消毒10min并漂洗干净后,整齐摆放在铺有2层滤纸的培养皿(直径15cm)中,每皿15粒,分别加入5mL 0.05、0.10、0.20、0.30 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 生物碱提取液,以蒸馏水作对照,重复5次。置于25℃培养箱中暗萌发2d后在光强700 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 下(光照16 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ )培养,3d后测定种

子膜相对透性(西北农业大学1987)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量(张志良和瞿伟菁2003)、 $\alpha$ -淀粉酶活性(张志良和瞿伟菁2003)、 $\text{GA}_{1+3}$ 和ATP含量(王维光1982)、黄瓜子叶异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶活性、UWL(张新华等2004)的变化。测定 $\text{GA}_{1+3}$ 含量时,称0.35g萌发种子,分3次加入预冷的80%甲醇共3mL,在弱光下分次冰浴匀浆,匀浆液倒入离心管,于4℃下以5000 $\times g$ 离心10min,取上清液,残渣加0.1mL 80%甲醇,再离心1次,合并上清液,用 $\text{GA}_{1+3}$ 酶联免疫吸附试剂盒(购自中国农业大学)测定其含量。异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶采用Servettaz等(1976)文中的方法制备酶液,按Dixon和Kornberg(1959)的方法测定异柠檬酸裂解酶活性,按Tolbert等(1970)文中的方法测定羟基丙酮酸还原酶活性。

## 实验结果

### 1 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子吸水速率的影响

由表1可见,多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子吸胀过程中相对含水量的增加有抑制作用,抑制程度随其浓度的升高而增强。吸胀48h时的各种浓度处理之间的种子吸水量无显著差异。

### 2 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜萌发种子膜透性和MDA含量的影响

从图1看出,随着多裂骆驼蓬中生物碱浓度的提高,黄瓜种子膜透性和MDA含量均上升,表明多裂骆驼蓬中生物碱可加剧膜脂的过氧化,以致膜结构损伤而透性增大。

表1 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子吸水速率的影响

Table 1 Effects of alkaloid of *P. multisectum* on water absorption of cucumber seeds

生物碱浓度/ $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	吸胀时间/h							
	6	12	18	24	30	36	42	48
0	9.47 <sup>a</sup>	14.62 <sup>a</sup>	15.98 <sup>a</sup>	20.03 <sup>a</sup>	24.17 <sup>a</sup>	25.76 <sup>a</sup>	26.39 <sup>a</sup>	27.13 <sup>a</sup>
0.05	9.33 <sup>a</sup>	12.97 <sup>ab</sup>	14.77 <sup>ab</sup>	19.57 <sup>a</sup>	23.43 <sup>ab</sup>	25.02 <sup>ab</sup>	26.15 <sup>a</sup>	27.05 <sup>a</sup>
0.10	9.21 <sup>a</sup>	11.81 <sup>b</sup>	13.62 <sup>b</sup>	17.22 <sup>b</sup>	21.89 <sup>b</sup>	23.85 <sup>ab</sup>	25.73 <sup>a</sup>	26.80 <sup>a</sup>
0.20	8.86 <sup>a</sup>	10.47 <sup>b</sup>	12.84 <sup>bc</sup>	16.57 <sup>b</sup>	20.52 <sup>b</sup>	22.33 <sup>b</sup>	24.64 <sup>ab</sup>	25.77 <sup>a</sup>
0.30	8.22 <sup>a</sup>	10.25 <sup>b</sup>	11.61 <sup>c</sup>	14.33 <sup>c</sup>	18.37 <sup>c</sup>	21.56 <sup>b</sup>	23.22 <sup>b</sup>	25.24 <sup>a</sup>

同列不同字母表示 SSR 测验在  $P < 0.05$  水平差异显著。

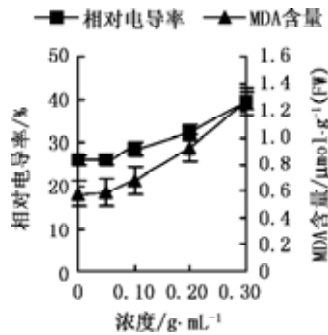


图1 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子膜相对透性和MDA含量的影响

Fig.1 Effects of alkaloid of *P. multisectum* on membrane permeability and MDA content of cucumber seeds

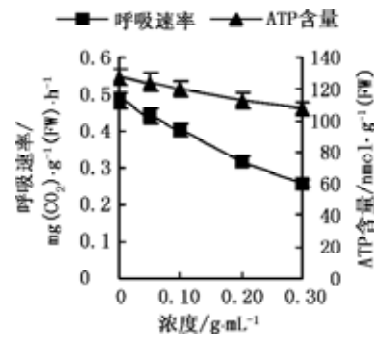


图3 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子呼吸速率和ATP含量的影响

Fig.3 Effects of alkaloid of *P. multisectum* on respiratory rate and ATP content of cucumber seeds

### 3 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜萌发种子 $\alpha$ -淀粉酶活性和GA<sub>1+3</sub>含量的影响

从图2可见,多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子 $\alpha$ -淀粉酶活性和GA<sub>1+3</sub>含量有抑制作用,浓度越大,抑制作用越强。

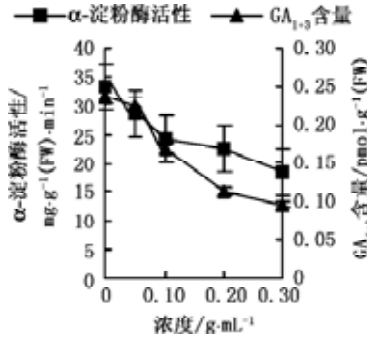


图2 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子 $\alpha$ -淀粉酶活性和GA<sub>1+3</sub>含量的影响

Fig.2 Effects of alkaloid of *P. multisectum* on  $\alpha$ -amylase activity and GA<sub>1+3</sub> content of cucumber seeds

### 4 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子呼吸速率和ATP含量的影响

种子萌动过程中呼吸速率和ATP含量变化与种子萌发密切相关。从图3可见,多裂骆驼蓬中生物碱抑制黄瓜种子的呼吸速率和ATP含量,且抑制作用随着其浓度的升高而增强。

### 5 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜子叶异柠檬酸裂解酶及羟基丙酮酸还原酶活性的影响

异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶分别是

乙醛酸循环和过氧化物酶体中的关键酶(Presley和Fowden 1965; Tolbert等1970),其活性代表着种子贮存脂肪向糖类转变及过氧化物酶体建成的速率。由图4可见,多裂骆驼蓬中生物碱抑制异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶的活性,浓度升高的酶活性下降更加明显,表明多裂骆驼蓬中生物碱抑制种子贮存期间脂肪向糖类的转变以及子叶中过氧化物酶体的构建,从而抑制种子萌发后幼苗的生长。

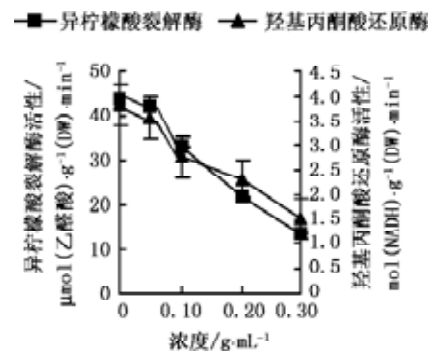


图4 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜子叶异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶活性的影响

Fig.4 Effects of alkaloid of *P. multisectum* on activities of isocitrate lyase and hydroxypyruvate reductase of cucumber cotyledons

### 6 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜子叶UWL的影响

由图5可知,多裂骆驼蓬中生物碱抑制黄瓜子叶的UWL强度,抑制程度随着其浓度提高而增强。

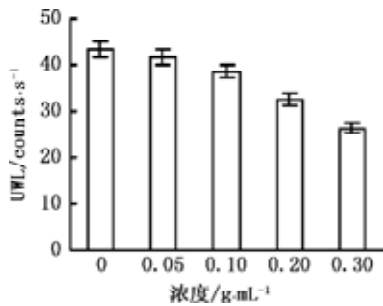


图5 多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜子叶UWL的影响

Fig.5 Effects of alkaloid of *P. multisectum* on UWL of cucumber cotyledons

## 讨 论

生物碱是多裂骆驼蓬的主要有毒活性成分之一。目前已从多裂骆驼蓬种子中分离出7种生物碱,从去果实和种子的地上部乙醇提取物中分离到6种(段金殿等1998),这些生物碱的基本结构为 $\beta$ -咔波啉( $\beta$ -carbolin)及喹唑啉(quinazoline)化合物及衍生物。杨石先等(1987)认为,骆驼蓬种子提取物中的主要活性生物碱为骆驼蓬碱(harmaline)和去氢骆驼蓬碱(harmine),其结构为吲哚的衍生物,对油菜种子萌发的抑制作用因处理浓度和萌发时间而异。浓度高、处理后萌发时间短,对种子萌发势抑制作用强,浓度降低或萌发时间延长即不再呈现出抑制作用。黄瓜种子的吸胀和种子贮存物质的转化是其萌发后幼苗生长的前提,本文结果表明,多裂骆驼蓬中生物碱抑制黄瓜种子的吸水过程,其原因可能是种皮导水性降低所致。此时,种子膜透性和MDA含量随多裂骆驼蓬中生物碱浓度的增大而提高,表明细胞膜脂质的过氧化导致膜透性增大可能是多裂骆驼蓬中生物碱抑制黄瓜种子正常生理过程,降低种子活力的原因。

种子萌发所需的物质和能量来源于贮存物质的氧化分解,贮存物质的氧化分解需要水解酶的参与(许传俊和李玲2006)。本文结果表明,多裂骆驼蓬中生物碱对黄瓜种子萌发过程中 $GA_{1+3}$ 的含量和 $\alpha$ -淀粉酶活性有抑制作用,并呈现出明显的浓度效应。同时,在多裂骆驼蓬中生物碱影响下,黄瓜种子萌发过程中的呼吸速率和ATP含量均下降。这说明多裂骆驼蓬中生物碱可能是通过

降低 $\alpha$ -淀粉酶活性和ATP含量而影响贮存物质的转化和能量供应的。

乙醛酸循环体和过氧化物酶体是高等植物的两个重要细胞器。前者在油料种子萌发及幼苗生长早期催化脂肪向糖类的转变以满足萌发及幼苗生长的需要发挥作用;随着贮存的脂肪的降解,乙醛酸循环体中酶活性逐渐下降,而子叶中过氧化物酶体则相应增加,于是光合器官随之发育形成。本文结果表明,经多裂骆驼蓬中生物碱处理的黄瓜种子于暗中萌发2d后,再放在光下培养3d的黄瓜子叶中的异柠檬酸裂解酶和羟基丙酮酸还原酶活性随着处理浓度的增大而下降。说明多裂骆驼蓬中生物碱是通过抑制种子贮存脂肪向糖类的转变及过氧化物酶体的建成而抑制萌发后幼苗生长发育的。

UWL是一种来自活细胞的电磁信号,主要来源于细胞内的核酸合成反应和发生在细胞膜上的氧化还原过程(习岗1994),因此UWL可作为植物体内代谢强弱的物理指标。本文结果显示,多裂骆驼蓬中生物碱处理的黄瓜子叶中UWL下降,并且随着处理浓度的增大,UWL和膜脂过氧化产物MDA同步下降。据此推测,活性氧引发的膜脂过氧化连锁反应可能不是子叶UWL降低的主要原因,很可能是由于细胞内核酸合成反应受到抑制的结果。

## 参考文献

- 段金殿,周荣汗,赵守训,车镇涛(1998).多裂骆驼蓬种子中生物碱的化学组成和抗癌活性研究.中国药科大学学报,29(1):21~23
- 刘建新,胡浩斌,赵国林,王鑫(2006).多裂骆驼蓬中生物碱类物质对小麦种子萌发和幼苗生长的影响.植物生理学通讯,42(2):213~216
- 刘建新,赵国林(2005).多裂骆驼蓬乙醇提取液浸种对番茄幼苗生长的影响.中国蔬菜,(8):12~14
- 刘建新,赵国林,雷蕊霞(2004).骆驼蓬提取物对玉米种子萌发和壮苗的影响.西北植物学报,24(5):903~906
- 刘建新,赵国林,薛林贵(2006).多裂骆驼蓬生物碱类物质抑菌杀虫活性研究.植物保护,32(5):41~44
- 马骥,王勋陵(1998).中国荒漠地区骆驼蓬属植物种类与分布.中国沙漠,18(2):131~132
- 潘启超,杨小平,李春杰,潘伟光(1997).骆驼蓬总碱药理作用的研究.中山医科大学学报,18(3):165~167
- 王维光(1982).虫荧光素酶系的制备及性质.植物生理学通讯,(4):

- 38~41
- 翁群芳, 钟国华, 胡美英, 罗建军, 李晓刚(2005). 骆驼蓬提取物对松材线虫的生物活性及生理效应. 中国农业科学, 38 (10): 2014~2022
- 西北农业大学(1987). 植物生理学实验指导. 西安: 陕西科学技术出版社, 149~151
- 习岗(1994). 植物超弱发光及其在农业上的应用. 物理, 23 (9): 548~552
- 许传俊, 李玲(2006). GA 信号转导. 植物生理学通讯, 42 (5): 961~965
- 杨石先, 陈茹玉, 武振亮, 史延年, 刘准, 张春香(1987). 骆驼蓬中活性物质的研究. 植物生理学通讯, (1): 18~21
- 张新华, 杨洪强, 李富军, 张伟(2004). 杏花开放过程中超弱发光和 ATP 及活性氧含量的变化. 植物生理与分子生物学报, 30 (1): 41~44
- 张学农, 孙殿甲, 孟怡(1993). 骆驼蓬生物碱提取方法的研究. 新疆医学院学报, 16 (4): 350~351
- 张志良, 瞿伟菁(2003). 植物生理学实验指导. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 135~137, 274~277
- Di Giorgio C, Delmas F, Ollivier E, Elias R, Balansard G, Timon-David P (2004). *In vitro* activity of the  $\beta$ -carboline alkaloids harmine, harmine, and harmaline toward parasites of the species *Leishmania infantum*. Exp Parasitol, 106 (3): 67~74
- Dixon GH, Kornberg HL (1959). Assay methods for key enzymes of glyoxylate cycle. Biochem J, 72: 39~56
- Keith AT, Alna RJ (1993). Technical and commercial aspect of biocontrol products. Pesti Sci, 37: 315~322
- Presley HJ, Fowden L (1965). Acid phosphatase and isocitritase production during seed germination. Phytochemistry, 4: 169~175
- Servettaz O, Cortesi F, Longo CP (1976). Effect of benzyladenine on some enzymes of mitochondria and microbodies in excised sunflower cotyledons. Plant Physiol, 58: 569~572
- Sobhani AM, Ebrahimi SA, Mahmoudianl M (2002). An *in vitro* evaluation of human DNA topoisomerase I inhibition by *Peganum harmala* L. seeds extract and its  $\beta$ -carboline alkaloids. J Pharm Pharmaceut Sci, 5 (1): 19~23
- Sokmen A, Vavdar-Unlu G (2000). Antimicrobial activities of methanolic extracts of various plants growing in the Sivas district. Turkish J Infection, 14 (2): 253~256
- Sourkes TL (2000). When harmine was tested in Parkinson's disease: an historical episode circum 1930. In: Fifth Annual Meeting of the International Society for the History of the Neurosciences. Rhode Island, USA
- Tolbert NE, Yamazaki RK, Oeser A (1970). Localization and properties of hydroxypyruvate and glyoxylate reductases in spinach leaf particles. J Biol Chem, 245: 5129~5136