

红花种子的低温贮藏条件探索

陈翠平, 徐红霞, 董帅, 文正莹, 闫婕, 吴清华*, 裴瑾*
(成都中医药大学药学院, 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137)

[摘要] 目的:研究红花种子适宜的低温贮藏条件。方法:检测不同温度条件(长期库、中期库、短期库、室温、超低温冰箱),不同种子含水量(8.1%,6.6%,5.2%,3.9%)及不同贮藏时间(2,4,6,8,10月)红花种子的发芽率、相对电导率、可溶性糖、可溶性蛋白、相关酶活性及贮藏后繁育更新所收获药材有效成分含量等,使用SPSS 20.0统计分析实验数据。结果:在10个月贮藏过程中,红花种子发芽率呈现温度越低越适宜于贮藏低含水量红花种子的趋势,贮藏的温度、含水量、贮藏时间不同对种子发芽率的差异均有统计学意义;贮藏10个月发芽率与其余检测指标均呈显著相关性。结论:红花种子在国家中药种质资源库长期库、中期库的适宜贮藏含水量为5.2%,6.6%,在短期库及超低温冰箱的适宜贮藏含水量为3.9%,5.2%;各库体、各含水量比较,长期库、含水量5.2%最适宜红花种子的贮藏,在此条件下,贮藏10个月后种子发芽率最高、相对电导率最低、可溶性糖及可溶性蛋白含量最高,贮藏4个月红花种子繁育更新所收获红花药材中羟基红花黄色素A(HSYA)含量较室温贮藏更高。

[关键词] 红花种子; 含水量; 温度; 贮藏时间; 种子贮藏

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)03-0155-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220118

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211201.0932.001.html>

[网络出版日期] 2021-12-02 16:55

Cryopreservation Conditions of *Carthamus tinctorius* Seeds

CHEN Cui-ping, XU Hong-xia, DONG Shuai, WEN Zheng-ying, YAN Jie, WU Qing-hua*, PEI Jin*
(State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, School of Pharmacy,
Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the suitable cryopreservation conditions of *Carthamus tinctorius* seeds. **Method:** The germination rate, relative conductivity, soluble sugar, soluble protein, and related enzyme activities of *C. tinctorius* seeds, as well as the hydroxysafflor yellow A (HSYA) content in Carthami Flos after storage and breeding for four months were detected under different temperature conditions (long-term storage, medium-term storage, short-term storage, room temperature, and ultra-low temperature refrigerator), different water content (8.1%, 6.6%, 5.2%, and 3.9%), and different storage time (2, 4, 6, 8, 10 months). SPSS 20.0 was used for statistical analysis. **Result:** During the storage for 10 months, the changing trend of the germination rate of *C. tinctorius* seeds revealed that it was more suitable to store seeds with low water content at a lower temperature. The differences in germination rate of seeds caused by storage temperature, seeds water content, and storage time were statistically significant. After storage for 10 months, the germination rate was significantly correlated with other detection indexes. **Conclusion:** The proper water content of *C. tinctorius* seeds in long-

[收稿日期] 20210707(027)

[基金项目] 四川省首批中医药学科建设重点项目(药用植物学川中医药函[2020]84号);国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人函[2019]41号);川产地道药材大品种精深加工关键技术及产品开发的研究与示范项目(2020YFN0152)

[第一作者] 陈翠平, 硕士, 助理实验师, 从事中药种子保藏及相关研究, E-mail: 991778124@qq.com

[通信作者] * 吴清华, 博士, 讲师, 从事中药资源品种、品质研究, E-mail: 514229689@qq.com;

* 裴瑾, 博士, 教授, 从事中药资源品质评价与利用, Tel: 028-61800231, E-mail: peixjin@163.com

term and medium-term storage is 5.2% or 6.6%, and that in short-term and ultra-low temperature refrigerator is 3.9% or 5.2%. As revealed by the comparison results, the optimal storage conditions for *C. tinctorius* seeds were long-term storage and water content of 5.2%, which resulted in the highest germination rate and content of soluble sugar and soluble protein and the lowest relative conductivity after storage for 10 months. Additionally, the content of hydroxy safflor yellow A (HSYA) in *Carthami Flos* obtained after breeding and regeneration for four months was higher than that obtained after room temperature storage.

[Keywords] *Carthamus tinctorius* seeds; water content; temperature; storage time; seeds storage

中药种质资源是我国发展优势中医药的独有战略资源,中药种质资源库是中药资源离体保护的重要形式^[1]。2012年伴随全国第4次中药资源普查,四川省与海南省分别建设国家级中药种质资源库,对于我国中药种质资源贮藏、药用资源可持续发展及国家药用生物安全将发挥重要而深远的意义^[1-2]。国际植物遗传资源委员会(IPGRI)推荐5%左右的含水量和-18℃低温作为种子库长期贮藏种子的理想条件,国家中药种质资源库以此为依据,在低温干燥条件下贮藏种子,可以极大延长正常型种子的寿命^[2]。

目前,中药资源贮藏研究主要集中在中药材的储藏研究方向,对储藏中药材的品质进行评价,主要有传统性状评价如颜色、气味、霉变情况^[3]及化学成分评价如黄酮类、萜类、生物碱等^[4]。有关中药种子的低温生物学研究较少,现有中药种子的储藏方法大致可以分为低温种子库贮藏、超干贮藏及超低温贮藏几种。其中超低温贮藏被认为是长期保存顽拗型中药种子最有前途方法,如超低温保存顽拗性益智种子1年,含水量在10.36%~18.64%,可保持总体发芽率均在50%以上^[5]。超干贮藏适合于耐脱水中药种子在生产中大规模的短期贮藏^[6],如党参种子在含水量1.52%~3.36%的超干条件下常温贮藏可保持良好活力^[7]。而低温种子库则适用于耐脱水中药种子的中、长期贮藏,如荆芥、黄芩在中期库保存4年,发芽率无显著性下降,桔梗、党参、益母草、穿心莲、冬凌草在在中期库保存4年,发芽率显著性下降,但都高于初始发芽率的79.6%^[8],而中药种子在低温种子库保存的研究较少,现有中药种子贮藏研究如鱼腥草^[9]、秦艽^[10]、白花前胡^[11]、桔梗^[12]、党参^[13]等并非按照低温种子库贮藏条件设计实验,多数未检测贮藏种子初始含水量。因此,亟需对库藏中药种子资源贮藏特性进行研究。

红花种子为菊科代表性种子,已有研究表明红花种子在含水量1.88%~4.84%室温保存或老化处理对种子发芽率影响较小^[14],但未见种子库低温贮

藏研究。本研究依托国家中药种质资源库基础条件,以中药红花的种子作为研究对象,就贮藏中影响种子活力的关键因素——种子含水量及贮藏温度,设置不同的贮藏条件,比较不同贮藏温度、不同种子含水量、不同贮藏时间红花种子的发芽率及各生理生化指标,研究红花种子资源适宜的低温贮藏条件,为红花种子长期贮藏提供依据,为资源库种子贮藏研究奠定基础。

1 材料

1.1 样品 红花种子来源于新疆裕民县振东道地红花开发有限公司,经成都中医药大学裴瑾教授鉴定为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* 的干燥成熟种子,其初始发芽率为89.0%,含水量为8.1%。

1.2 试剂 甲醇、乙腈(色谱纯,美国Fisher公司),磷酸(分析纯,成都市科龙化工试剂厂),羟基红花黄色素A(HSYA,成都曼思特生物科技有限公司,批号MUST-15072815,纯度99.71%);超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),过氧化氢酶(CAT),植物可溶性糖含量,BCA蛋白法含量试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司,货号分别为SOD-1-Y, POD-1-Y, CAT-1-Y, KT-1-Y, BCAP-1-W)。

1.3 仪器 DDS-11A型电导率仪(雷磁),FLASH型酶标仪(美国Thermo),HITACHI CT15RE型台式离心机(日本日立),冷冻干燥机(宁波市双嘉仪器有限公司),SQP型1/10万感量电子天平(德国Sartorius),A11型IKA研磨机(广州仪科实验室技术有限公司),SHG-9140A型电热恒温鼓风干燥箱(上海将任),GTOP系列光照培养箱(浙江托普),1200系列高效液相色谱仪系统和1260型二极管阵列检测器(DAD,美国Agilent Technologies)。

2 方法

2.1 种子处理 根据国家《农作物种子检验规程》(GB/T 3543—1995)^[15]通过(35±2)℃电热恒温鼓风干燥箱干燥,将初始含水量为8.1%的红花种子含水量降低为6.6%,5.2%,3.9%,得到4个梯度含水量的红花种子。分组详情见表1。

表1 不同贮藏条件红花种子分组

Table 1 Grouped of *Carthamus tinctorius* seeds under different temperature and water content

编号	贮藏温度/°C	含水量/%	编号	贮藏温度/°C	含水量/%
1	室温	3.9	11		6.6
2		5.2	12		8.1
3		6.6	13	-18±2	3.9
4		8.1	14		5.2
5	15±2	3.9	15		6.6
6		5.2	16		8.1
7		6.6	17	-75±5	3.9
8		8.1	18		5.2
9	-4±2	3.9	19		6.6
10		5.2	20		8.1

将上述4种含水量的种子密封包装分别贮藏于室温(25 °C),短期库[(15±2) °C],中期库[(-4±2) °C],长期库[(-18±2) °C]和超低温[(-75±2) °C]5个温度环境下,贮藏10个月,每2个月取样测定发芽率、电导率、可溶性糖及可溶性蛋白含量,贮藏10月后检测种子中SOD,POD,CAT活性。

2.2 贮藏前后发芽指标检测 发芽试验参照《农作物种子检验规程》GB/T 3543—1995^[15]技术规定的发芽方法进行发芽试验。随机选取50粒种子,置于两层滤纸的培养皿中,放置在光照培养箱中,发芽条件为温度(25±2)°C,光照16 h,黑暗8 h。4次重复,第7 d统计发芽率^[16]。发芽率=(发芽种子粒数/供试种子粒数)×100%。

2.3 贮藏前后电导率检测 参照尹燕桦等^[17]的电导率测定方法,随机称取净种子20粒,称重W,用去离子水冲洗2次,定性滤纸吸干浮水,然后放入到100 mL锥形瓶中,加入去离子水50 mL,用电导率仪测定初始电导值d1;20 °C条件下浸泡24 h,测定浸出液电导值d2;然后连同种子的浸泡液在沸水中煮35~40 min,冷却至20 °C后,加去离子水定容至煮沸前的体积,测定煮沸后种子浸出液的绝对电导值d3。4次重复。相对电导率(%)=(d2-d1)×100/(d3-d1)。

2.4 贮藏前后可溶性糖、可溶性蛋白及抗氧化酶系统活性测定 分别按照试剂盒说明书进行操作,测定红花种子中可溶性糖、可溶性蛋白含量以及SOD,POD,CAT的活性,每个指标检测重复3次。

2.5 贮藏红花种子种植后成分检测 将含水量3.9%,5.2%,6.6%及8.1%的红花种子置于长期库中贮存,4个月后取出作为实验组,以8.1%室温贮藏

4个月种子为对照组,种植采取随机区组排列,3次重复,每处理种一小区,小区长3.5 m,宽2 m,行间距0.4 m,株距11 cm,穴播3粒,开花3~4 d采摘。

供试品溶液制备:上午8~9点采摘开花3~4 d红花,立即放入冰盒,带回实验室进行冷冻干燥24 h,液氮打粉,精密称取红花粉末0.4 g于锥形瓶中,精密加入25%甲醇50 mL,称重,超声(300 W,50 kHz)处理40 min,放冷后重新称重并用25%甲醇补足失重,摇匀滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

对照品溶液制备:精密称定HSYA对照品4 mg,加25%甲醇10 mL超声溶解,制成每1 mL含0.401 mg的溶液。

色谱条件^[18]:Agilent Zorbax Eclipse XDB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相甲醇-乙腈-0.7%磷酸水溶液(26:2:72);流速0.8 mL·min⁻¹;柱温25 °C;进样量10 μL;检测波长403 nm。

3 结果与分析

3.1 贮藏温度和含水量对红花种子发芽率的影响

红花种子在不同贮藏条件下贮藏10个月的过程中,其发芽率变化存在一定规律。室温及短期库条件下,种子含水量8.1%及6.6%的种子发芽率较高;长期库及中期库条件下,含水量5.2%及6.6%的种子发芽率较高;超低温冰箱条件下,含水量3.9%及5.2%的种子发芽率较高。种子贮藏性呈现出含水量越低越适宜于贮藏在温度更低的环境中。见表2。贮藏10个月后红花种子发芽率出现差异性。在室温及短期库条件下,含水量为6.6%和8.1%的种子发芽率较高;在长期库及中期库条件下,含水量为5.2%和6.6%的种子表现出较高的发芽率,与室温组相比分别上升了1.66%,0.56%,而高含水量8.1%的种子发芽率则下降了5.00%;在超低温冰箱条件下,8.1%含水量的种子发芽率则是下降了6.67%,低含水量3.9%的种子则是较高,与初始状态几无差异。

3.2 贮藏温度和含水量对红花种子电导率的影响

各贮藏条件下,随着贮藏时间的延长种子相对电导率均呈现下降趋势。贮藏10个月后种子相对电导率有明显的差异。含水量为8.1%的红花种子,其相对电导率在不同温度下都较高,尤其在室温及-超低温冰箱条件下;在超低温条件下,含水量越低种子相对电导率值越小;含水量为5.2%的种子在长期库、中期库条件下,其相对电导率最低,分别为(26.14±0.60)%,(28.06±0.77)%。见表3。

表2 不同贮藏条件下红花种子的发芽率 (n=4)

Table 2 Germination rate of *Carthamus tinctorius* seeds under different temperature and water content (n=4)

%

编号	发芽率					
	0月	2月	4月	6月	8月	10月
1	90.5±1.91 ^a	90.5±2.52 ^a	89.0±1.15 ^a	88.0±2.83 ^a	85.5±3.42 ^a	85.5±3.42 ^b
2	90.5±1.63 ^a	90.5±1.00 ^a	91.0±2.00 ^a	89.0±3.46 ^a	88.0±1.63 ^a	88.0±1.63 ^{ab}
3	89.5±1.00 ^a	89.5±4.43 ^a	91.5±3.42 ^a	92.5±1.91 ^a	90.5±1.91 ^a	90.5±1.91 ^a
4	89.0±2.58 ^a	90.0±4.90 ^a	90.0±2.83 ^a	91.0±2.00 ^a	91.0±1.15 ^a	91.0±1.15 ^a
5	90.5±1.91 ^a	92.0±3.27 ^a	91.5±2.52 ^a	88.0±1.63 ^a	89.0±4.76 ^a	89.0±4.76 ^a
6	90.5±1.63 ^a	91.5±3.42 ^a	91.0±5.29 ^a	87.0±7.39 ^a	89.0±2.58 ^a	89.0±2.58 ^a
7	89.5±1.00 ^a	90.0±1.63 ^a	92.5±1.91 ^a	94.0±3.65 ^a	91.5±3.42 ^a	91.5±3.42 ^a
8	89.0±2.58 ^a	89.0±1.15 ^a	91.5±5.00 ^a	88.0±5.66 ^a	89.5±3.00 ^a	89.5±3.00 ^a
9	90.5±1.91 ^a	91.5±1.00 ^a	89.5±3.42 ^a	88.5±3.79 ^a	87.5±2.52 ^a	87.5±2.52 ^{ab}
10	90.5±1.63 ^a	91.5±3.42 ^a	92.0±1.63 ^a	91.5±5.97 ^a	90.5±1.91 ^a	90.5±1.91 ^a
11	89.5±1.00 ^a	89.0±3.46 ^a	90.5±4.12 ^a	91.5±1.00 ^a	89.0±2.58 ^a	89.0±2.58 ^{ab}
12	89.0±2.58 ^a	89.0±2.58 ^a	90.0±5.89 ^a	87.5±2.52 ^a	85.5±2.52 ^a	85.5±2.52 ^b
13	90.5±1.91 ^a	91.5±1.91 ^a	89.5±3.79 ^a	88.5±2.52 ^a	88.0±1.63 ^{ab}	88.0±1.63 ^b
14	90.5±1.63 ^a	91.5±3.00 ^a	91.5±6.81 ^a	91.5±1.00 ^a	92.0±2.83 ^a	92.0±2.83 ^a
15	89.5±1.00 ^a	91.0±8.08 ^a	90.5±1.91 ^a	91.0±1.54 ^a	90.0±2.31 ^a	90.0±2.31 ^{ab}
16	89.0±2.58 ^a	89.5±1.00 ^a	87.5±1.91 ^a	86.5±3.42 ^a	87.0±1.54 ^b	87.0±1.15 ^b
17	90.5±1.91 ^a	92.0±2.31 ^a	91.0±4.16 ^a	90.0±4.32 ^a	90.0±2.83 ^a	90.0±2.83 ^a
18	90.5±1.63 ^a	91.5±2.52 ^a	90.5±5.51 ^a	89.5±2.52 ^a	88.5±7.72 ^a	88.5±7.72 ^a
19	89.5±1.00 ^a	88.0±1.63 ^a	87.5±1.91 ^a	86.5±1.91 ^a	86.0±3.65 ^a	86.0±3.65 ^a
20	89.0±2.58 ^a	88.5±1.91 ^a	88.0±1.63 ^a	84.5±4.43 ^a	84.0±2.83 ^a	84.0±2.83 ^a

注:同一列不同小写字母表示差异具有统计学意义(P<0.05)(表3~6同)。

3.3 贮藏温度和含水量对红花种子贮藏物质的影响 红花种子在10个月贮藏过程中,室温、短期库及中期库贮藏环境中含水量3.9%至6.6%条件下可溶性糖含量整体较高;短期库中贮藏8个月后可溶性糖含量在组间出现明显差异,在含水量5.2%及6.6%条件下较高;长期库贮藏环境中,可溶性糖含量在含水量5.2%条件下整体较高;超低温冰箱贮藏环境中,可溶性糖含量在含水量3.9%及5.2%条件下整体较高。贮藏10个月后,含水量6.6%种子在室温及短期库条件下可溶性糖含量最高,含水量5.2%种子长期库及中期库条件下可溶性糖含量最高,含水量3.9%种子在超低温冰箱条件下可溶性糖含量最高。见表4。

红花种子在10个月贮藏过程中,室温下及中期库贮藏环境中含水量3.9%至6.6%条件下可溶性蛋白含量整体较高;短期库贮藏环境中,含水量6.6%条件下可溶性蛋白含量较高;长期库贮藏环境中,含水量5.2%,6.6%条件下可溶性蛋白含量较高;超低温冰箱贮藏环境中,含水量3.9%,5.2%条件下可

溶性蛋白含量较高。贮藏10个月后,含水量6.6%种子在室温、短期库及中期库条件下可溶性蛋白含量最高,含水量5.2%种子在长期库条件下可溶性蛋白含量最高,含水量3.9%种子在超低温冰箱条件下可溶性蛋白含量最高。见表5。

3.4 贮藏温度和含水量对红花种子抗氧化酶系统的影响 不同含水量、温度贮藏10个月后抗氧化酶(SOD, POD, CAT)活性测定结果呈现一定的规律。超低温冰箱、含水量3.9%的红花种子,长期库含水量5.2%的红花种子,中期库含水量6.6%的红花种子,短期库含水量6.6%的红花种子表现出SOD活性最低,POD和CAT活性最高的规律;室温条件下含水量6.6%的红花种子SOD活性最低,CAT活性最高,含水量8.1%的红花种子POD活性最高。见表6。

3.5 不同含水量贮藏下红花中HSYA的含量变化 长期库贮藏含水量3.9%,5.2%,6.6%,8.1%及室温贮藏含水量8.1%的红花种子,种植后收获药材的HSYA质量分数分别为(19.098±0.16), (19.364±

表3 不同温度和含水量下红花种子的相对电导率(n=4)

Table 3 Relative conductivity of *Carthamus tinctorius* seeds under different temperatures and water content (n=4) %

编号	不同贮藏时间相对电导率				
	2月	4月	6月	8月	10月
1	41.0±5.46 ^a	43.4±11.4 ^a	40.7±4.43 ^{ab}	30.4±3.00 ^a	29.7±0.83 ^b
2	37.7±3.26 ^a	41.1±4.01 ^a	35.8±6.68 ^a	28.0±2.60 ^a	27.9±0.69 ^c
3	37.9±4.12 ^a	39.3±5.64 ^a	38.2±1.50 ^a	29.2±1.67 ^a	28.2±0.95 ^{bc}
4	37.8±6.92 ^a	37.8±4.43 ^a	38.5±2.33 ^b	32.4±5.29 ^a	31.6±0.89 ^a
5	37.1±1.90 ^a	39.4±4.43 ^a	37.1±2.05 ^a	28.6±4.47 ^a	27.6±0.80 ^a
6	40.3±2.03 ^a	41.7±4.85 ^a	40.2±3.24 ^a	36.0±7.26 ^a	28.6±3.28 ^a
7	38.1±3.24 ^a	38.3±6.21 ^a	41.1±3.21 ^a	29.4±2.58 ^a	28.5±2.83 ^a
8	39.8±4.05 ^a	41.4±6.60 ^a	34.0±2.77 ^a	32.5±5.01 ^a	29.3±1.84 ^a
9	35.9±3.77 ^a	36.3±4.79 ^{ab}	40.8±4.54 ^a	32.5±6.07 ^a	28.9±1.60 ^{ab}
10	37.3±3.25 ^a	40.7±0.56 ^a	36.9±3.46 ^a	31.0±3.82 ^a	28.1±0.77 ^b
11	39.28±5.21 ^a	42.8±5.80 ^a	38.6±6.29 ^a	30.3±3.08 ^a	30.6±0.39 ^a
12	39.7±2.27 ^a	31.8±3.60 ^b	31.7±1.90 ^a	29.2±1.32 ^a	29.3±0.69 ^{ab}
13	37.1±2.25 ^a	34.3±3.68 ^a	33.0±1.63 ^a	27.7±0.55 ^a	28.1±0.85 ^{ab}
14	37.4±5.76 ^a	33.4±2.85 ^a	29.2±13.90 ^a	29.1±1.73 ^a	26.1±0.60 ^b
15	40.6±1.93 ^a	35.2±4.92 ^a	35.2±4.25 ^a	27.9±1.77 ^a	27.6±1.40 ^{ab}
16	40.7±2.34 ^a	33.7±6.28 ^a	34.7±4.69 ^a	26.9±2.76 ^a	29.2±0.68 ^a
17	36.6±4.78 ^a	35.5±4.90 ^a	32.6±5.20 ^a	28.2±0.81 ^b	27.8±0.49 ^b
18	42.1±2.33 ^a	38.1±3.35 ^a	34.2±4.70 ^a	29.3±2.16 ^b	27.9±0.92 ^b
19	40.2±1.59 ^a	35.5±8.73 ^a	45.2±2.40 ^a	34.2±3.38 ^a	29.6±1.75 ^{ab}
20	38.6±2.76 ^a	36.7±5.60 ^a	41.6±2.76 ^a	30.7±1.64 ^b	30.8±0.62 ^a

0.09), (19.332±0.12), (19.036±0.15), (18.938±0.05) mg·g⁻¹。可见,各组红花样品中HSYA含量均在1.8%以上,达到2020年版《中华人民共和国药典》标准(规定含量不得少于1%,即≥10 mg·g⁻¹)。含水量5.2%,6.6%两组红花HSYA含量最多,在19.3 mg·g⁻¹以上,HSYA含量较常温组多2%左右,而高含水量8.1%组的HSYA含量与常温组相差无几。

4 结论

SPSS 20.0软件分析红花种子不同贮藏温度、含水量、时间对红花种子发芽率、相对电导率、可溶性糖及可溶性蛋白的方差分析,见表7。表明贮藏的温度、含水量、贮藏时间对种子发芽率及可溶性蛋白的差异均具有统计学意义;贮藏的温度、贮藏时间对种子相对电导率的差异具有统计学意义;含水量、贮藏时间对种子可溶性糖的差异具有统计学意义。

SPSS 20.0软件处理贮藏10个月后7个观测指标的相关系数矩阵见表8。种子在不同贮藏条件

表4 不同温度和含水量下红花种子的可溶性糖质量分数(n=4)

Table 4 Soluble sugar content of *Carthamus tinctorius* seeds under different temperature and water content (n=4) mg·g⁻¹

编号	不同贮藏时间可溶性糖含量				
	2月	4月	6月	8月	10月
1	10.9±0.36 ^{ab}	9.9±0.73 ^a	8.9±0.27 ^a	9.8±1.14 ^a	11.1±0.37 ^b
2	11.6±0.91 ^a	10.1±0.49 ^a	9.0±0.32 ^a	9.9±1.00 ^a	10.7±0.22 ^b
3	10.2±0.66 ^b	10.2±0.72 ^a	8.1±0.24 ^c	9.6±0.96 ^a	12.1±0.93 ^a
4	10.5±1.50 ^{ab}	9.9±0.24 ^a	8.5±0.11 ^b	8.9±0.82 ^a	10.9±1.51 ^b
5	11.3±0.97 ^a	9.9±0.29 ^a	9.2±1.05 ^a	8.2±1.19 ^{bc}	10.4±0.23 ^b
6	10.9±0.83 ^a	9.8±0.37 ^a	8.8±0.11 ^a	10.2±0.76 ^a	11.0±0.63 ^{ab}
7	10.0±0.62 ^b	9.5±1.06 ^a	8.4±0.36 ^a	8.9±0.95 ^b	11.3±0.74 ^a
8	11.2±0.76 ^a	10.1±0.89 ^a	9.1±0.44 ^a	7.5±1.16 ^c	10.9±0.60 ^{ab}
9	11.0±0.89 ^b	9.3±0.51 ^b	9.1±0.32 ^a	9.3±1.00 ^a	10.5±0.45 ^b
10	12.7±0.89 ^a	11.2±0.38 ^a	8.3±0.31 ^b	8.6±0.81 ^a	12.2±1.38 ^a
11	10.8±0.69 ^b	10.7±0.78 ^a	8.2±0.19 ^b	10.3±2.69 ^a	11.2±0.94 ^b
12	9.9±1.17 ^b	10.7±0.86 ^a	8.4±0.11 ^b	9.6±0.80 ^a	10.3±0.44 ^b
13	12.6±0.81 ^a	9.7±0.51 ^a	9.2±0.26 ^b	9.5±0.54 ^b	11.5±0.88 ^b
14	10.1±0.87 ^b	9.9±0.94 ^a	9.6±0.19 ^a	11.2±0.86 ^a	12.5±0.29 ^a
15	10.3±1.27 ^b	10.1±0.55 ^a	9.0±0.48 ^b	8.3±1.18 ^c	12.0±0.63 ^{ab}
16	10.0±1.44 ^b	9.3±1.20 ^a	9.0±0.21 ^b	9.3±0.85 ^b	10.3±0.47 ^c
17	9.7±0.98 ^a	10.6±0.31 ^a	8.7±0.55 ^a	9.5±0.85 ^a	11.3±0.75 ^a
18	9.9±1.19 ^a	10.3±0.47 ^a	9.0±0.23 ^a	10.2±1.07 ^a	10.9±1.79 ^a
19	9.3±0.71 ^{ab}	10.5±0.89 ^a	8.4±0.03 ^a	10.0±1.37 ^a	10.7±0.35 ^a
20	8.2±1.24 ^b	9.2±1.03 ^b	8.8±0.51 ^a	8.1±1.12 ^b	10.5±1.57 ^a

下,发芽率与其余指标均呈显著相关性,与可溶性糖、可溶性蛋白和CAT活性呈极显著正相关,与SOD活性呈极显著负相关;相对电导率与SOD活性,POD活性呈极显著正相关,与可溶性蛋白呈极显著负相关;可溶性糖、可溶性蛋白及CAT活性相互呈极显著正相关关系,SOD活性与可溶性蛋白呈显著负相关,POD与可溶性蛋白呈显著正相关。

将不同温度、含水量贮藏10个月后种子的4个主要检测指标进行主成分分析(PCA)分析,降维处理后得到1个主成分的累计方差贡献率为73.354%,见表9。从表10可知,可溶性蛋白、发芽率及可溶性糖在第一主成分上有较高的荷载。PCA二维图显示,经10个月贮藏后,长期库5.2%,6.6%,3.9%含水量,中期库5.2%,6.6%含水量,短期库3.9%,5.2%含水量,室温5.2%含水量,超低温3.9%,5.2%含水量可聚为一类,适宜红花种子贮藏,其中长期库5.2%含水量最适宜红花种子贮藏;超低温8.1%含水量种子可聚为一类,最不宜红花种子贮藏,见图1。

表5 不同温度和含水量下红花种子的可溶性蛋白 (n=4)

Table 5 Soluble protein content of *Carthamus tinctorius* seeds under different temperature and water content (n=4) mg·g⁻¹

编号	不同贮藏时间可溶性蛋白				
	2月	4月	6月	8月	10月
1	22.5±0.51 ^a	23.2±1.35 ^{ab}	20.7±0.50 ^a	23.5±1.62 ^{ab}	21.2±1.06 ^b
2	22.0±0.82 ^a	24.5±0.61 ^a	19.7±1.27 ^a	25.3±1.60 ^a	21.2±0.75 ^b
3	20.8±1.34 ^b	22.4±0.96 ^b	19.7±0.26 ^a	25.5±1.98 ^a	22.8±1.31 ^a
4	22.5±1.5 ^a	23.6±1.33 ^{ab}	20.4±2.27 ^a	23.4±1.17 ^b	21.7±0.57 ^b
5	21.7±0.67 ^a	23.2±0.73 ^{ab}	25±1.64 ^a	22.6±1.6 ^a	22.1±1.08 ^a
6	21.3±1.36 ^a	24.3±1.22 ^a	23.8±0.56 ^a	24.1±1.87 ^a	22.5±1.76 ^a
7	21.6±0.89 ^a	24.8±1.95 ^a	25.5±2.97 ^a	24.8±3.01 ^a	22.7±1.02 ^a
8	21.2±0.69 ^a	22.3±0.97 ^b	18.6±4.03 ^b	24.5±1.19 ^a	21.5±1.49 ^a
9	21.7±1.14 ^a	24.2±1.89 ^a	23.1±1.93 ^a	24.8±0.67 ^a	21.3±1.0 ^b
10	22.0±1.64 ^a	22.4±0.77 ^b	22.8±0.09 ^a	25.5±1.16 ^a	22.6±1.15 ^{ab}
11	20.7±0.99 ^a	23.7±1.57 ^{ab}	22.9±0.36 ^a	25.1±1.25 ^a	22.9±1.20 ^a
12	20.9±1.53 ^a	22.3±0.32 ^b	22.0±2.76 ^a	26.4±3.88 ^a	22.0±0.73 ^{ab}
13	20.7±0.15 ^b	24.5±0.91 ^a	21.6±2.07 ^a	24.0±1.37 ^{ab}	22.0±0.96 ^b
14	22.4±1.65 ^a	24.4±0.69 ^a	22.3±1.04 ^a	25.3±0.79 ^a	24.6±0.98 ^a
15	23.0±0.40 ^a	22.3±0.74 ^b	22.9±5.63 ^a	24.9±1.49 ^a	23.8±1.00 ^a
16	20.7±0.12 ^b	22.6±1.43 ^b	21.8±3.11 ^a	23.1±0.90 ^b	20.8±1.14 ^c
17	22.6±0.31 ^a	22.1±0.74 ^a	20.1±3.34 ^a	24.8±0.71 ^a	23.7±0.8 ^a
18	21.3±1.45 ^b	22.4±0.66 ^a	20.4±1.92 ^a	23.5±1.13 ^b	22.3±1.58 ^b
19	21.6±0.46 ^b	22±0.64 ^a	19.6±1.40 ^a	22.7±1.89 ^b	21.8±0.87 ^b
20	19.9±0.87 ^c	22±1.29 ^a	20.4±0.96 ^a	22.8±0.57 ^b	20.1±0.83 ^c

5 讨论

种质是指生物体亲代传递给子代的遗传物质^[19],种子是被子植物和裸子植物特有的繁殖体,属于种质的一种。种子活力在种子生理成熟时达到最高,此后在贮藏过程中受内外环境的影响,种

子老化的情况将会不可逆、不可避免地发生^[20]。种子库是专门的、现代化的种子贮藏机构,可极大延长种子寿命,按照贮藏种子的主要服务目标、行业等差异,种子库主要有农业种子库、野生生物种子库及中药种子库等,国家中药种质资源库是目前全国最大的中药种质资源保存库^[21]。中药种质资源库在参考英国千年种子库、中国西南野生生物种质资源库以及国家作物种质资源库的建设要求^[21]基础上,建立有双十五干燥间2间,温度15℃,相对湿度(RH)15%,有长期库3间、中期库2间、短期库(临时库)1间,库体温度及相对湿度分为(-18±2)℃, RH<50%, (-4±2)℃, RH<45%及(15±2)℃, RH<45%,库容量20万份,保存期限50年^[22]。

种子贮藏中含水量与贮藏温度是影响种子生活力至关重要的两个因素。ROBERTS在1972年推导出种子含水量、贮藏温度与种子生命力三者关系的种子生命力方程,并在1973年提出正常型种子(orthodox seeds)和顽拗性种子(recalcitrant seeds)概念,1991年与ELLIS, HONG一起定义中间型种子(intermediate seeds)^[22]。正常型种子具有耐脱水耐低温的特性,在干燥、低温的贮藏条件下可延长种子寿命,大多数植物种子(约89%)都为正常型种子^[23]。本研究中红花种子可耐脱水、耐低温贮藏,在含水量5%以下,(-18±2)℃贮藏超过3个月种子活力基本不变,因此红花种子属于正常型种子^[24]。

本研究从影响种子贮藏最关键的温度、含水量2个因素设计红花种子的贮藏实验,将各含水量(8.1%, 6.6%, 5.2%, 3.9%)种子分别放在不同温度条件下(长期库、中期库、短期库、室温及超低温冰箱)

表6 10个月贮藏后红花种子的抗氧化酶活性 (n=4)

Table 6 Antioxidant enzyme activity of *Carthamus tinctorius* seeds after 10 months of storage (n=4)

U·g⁻¹

编号	10个月贮藏后酶活性指标			编号	10个月贮藏后酶活性指标		
	SOD	POD	CAT		SOD	POD	CAT
1	53.3±0.31 ^a	979.3±31.76 ^c	399.1±18.64 ^c	11	50.4±1.46 ^b	1 072.0±52.81 ^a	423.1±16.30 ^a
2	51.8±1.52 ^{ab}	988.0±29.13 ^{ab}	416.8±7.74 ^{bc}	12	53.0±1.80 ^a	980.3±44.78 ^a	425.3±12.88 ^a
3	49.4±0.63 ^c	932.8±67.18 ^c	447.7±23.00 ^a	13	51.4±1.90 ^{ab}	968.3±86.69 ^a	424.5±16.04 ^b
4	50.9±1.53 ^{bc}	1 018.4±44.22 ^a	425.7±10.66 ^{ab}	14	49.6±0.44 ^b	1 060.6±26.96 ^a	453.5±10.65 ^a
5	51.4±1.39 ^{ab}	976.6±43.59 ^a	414.6±24.47 ^a	15	51.1±0.96 ^{ab}	1 044.4±56.37 ^a	437.2±13.81 ^{ab}
6	50.1±0.05 ^b	1 028.5±28.76 ^a	410.5±16.08 ^a	16	52.2±1.36 ^a	983.1±44.21 ^a	414.1±25.36 ^b
7	49.9±1.59 ^b	1 049.9±63.06 ^a	433.3±14.33 ^a	17	48.4±1.91 ^b	1 025.7±32.97 ^a	454.2±11.30 ^a
8	52.1±0.78 ^a	1 041.9±60.07 ^a	420.8±15.29 ^a	18	50.4±1.03 ^b	975.90±66.34 ^{ab}	433.0±12.61 ^{ab}
9	51.4±1.32 ^{ab}	984.4±64.15 ^a	421.9±21.81 ^a	19	55.0±0.99 ^a	1 031.1±50.59 ^a	436.7±20.60 ^{ab}
10	50.0±1.73 ^b	1 010.6±65.76 ^a	448.4±27.25 ^a	20	56.3±1.33 ^a	920.5±46.47 ^b	416.6±25.01 ^b

表7 不同贮藏条件对红花种子发芽率、相对电导率等指标的方差分析

Table 7 Analysis of variance of the influence of storage conditions on *Carthamus tinctorius* seed germination rate, relative conductivity, soluble sugar content and soluble protein content

影响因素	发芽率		相对电导率		可溶性糖		可溶性蛋白	
	F	P	F	P	F	P	F	P
温度	3.856	0.006 ¹⁾	3.528	0.010 ¹⁾	1.735	0.149	4.183	0.004 ¹⁾
含水量	7.779	0.000 ¹⁾	0.528	0.664	5.509	0.002 ¹⁾	4.433	0.006 ¹⁾
贮藏时间	5.475	0.001 ¹⁾	49.142	0.000 ¹⁾	36.553	0.000 ¹⁾	22.561	0.000 ¹⁾

注: ¹⁾表明温度、含水量及储藏时间分别对发芽率、相对电导率、可溶性糖及可溶性蛋白的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表8 红花7个观测指标间相关系数

Table 8 Correlation coefficient among 7 observation indexes

指标	发芽率	相对电导率	可溶性糖	可溶性蛋白	SOD	POD	CAT
发芽率	1						
相对电导率	-0.535 ¹⁾	1					
可溶性糖	0.671 ²⁾	-0.450 ¹⁾	1				
可溶性蛋白	0.735 ²⁾	-0.698 ²⁾	0.755 ²⁾	1			
SOD	-0.841 ²⁾	0.578 ²⁾	-0.556 ¹⁾	-0.728 ¹⁾	1		
POD	0.551 ¹⁾	0.662 ²⁾	0.318	0.594 ¹⁾	-0.374	1	
CAT	0.593 ²⁾	-0.344	0.683 ²⁾	0.730 ²⁾	-0.505 ¹⁾	0.273	1

注: 各指标间相关性¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

表9 红花主成分分子的特征值和方差贡献率

Table 9 Eigenvalue and variance contribution rate of *Carthamus tinctorius* principal component factor

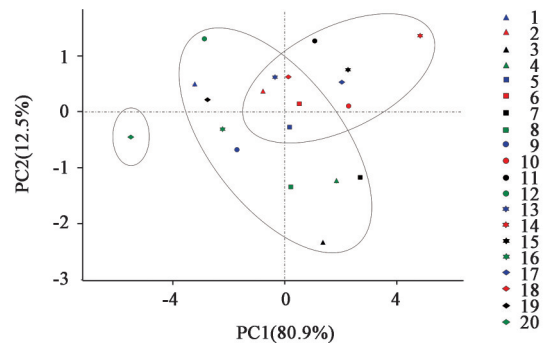
成分	初始特征值			提取平方和载入		
	合计	方差/%	累积/%	合计	方差/%	累积/%
1	2.934	73.354	73.354	2.934	73.354	73.354
2	0.574	14.353	87.707			
3	0.326	8.142	95.849			
4	0.166	4.151	100.00			

表10 红花主成分载荷

Table 10 Principal component load of *Carthamus tinctorius*

检测指标	PC1
发芽率	0.863
电导率	-0.773
可溶性糖	0.845
可溶性蛋白	0.937

贮藏10个月,每2个月取出检测种子的发芽率、相对电导率、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量及SOD, POD, CAT活性。储藏4个月后取出长期库各含水量种子种植获得红花药材,检测HSYA含量。结果明确了红花贮藏的最适环境为长期库5.2%含水量贮藏。在此条件下储藏10个月后红花种子的发芽率最高、相对电导率最低、可溶性糖及可溶性蛋白含量最高,贮藏4个月红花种子繁育更新所收获得



图中编号同表1

图1 红花主成分二维分析

Fig. 1 Principal component two dimensional diagram of *Carthamus tinctorius*

红花药材中HSYA含量较室温贮藏更高。本研究为红花种子长期贮藏提供依据,为中药种子资源的贮藏研究奠定基础。本研究储藏时间最长为10个月,

种子发芽率均相比初始发芽率大于65%,高于繁育更新标准的最低临界值^[2],因此后期将继续长期跟踪贮藏种子生活力变化情况。

我国药用植物丰富,第三次中药资源普查中药资源种类达12 807种,其中药用植物11 116种^[25]。我国主要的农作物种子低温贮藏技术已经基本成熟,种子贮藏适宜的含水量、储藏寿命等等已经明确,部分经济作物已建立较为规范的种质资源体系和操作规范^[26];而药用植物种类繁多,种子贮藏起步较晚,多数药用植物种子耐脱水性获得与种子发育阶段的关系不明确、种子耐脱水性及贮藏特性尚不明确、种子长期贮藏研究缺乏,种子耐脱水机制、耐脱水基因尚不清楚,因此需要加强中药种子寿命有关因素与机理的研究,寻找最佳贮藏条件,以实现中药种子资源的合理贮藏、可持续开发利用。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

[1] 裴瑾. 中药资源学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2017.

[2] 闫婕,彭成,裴瑾,等. 国家中药种质资源库的建设思路与发展策略[J]. 成都中医药大学学报, 2021, 44(1):14-19,31.

[3] 熊素琴,燕娜娜,徐双美,等. 中药贮藏期品质变化及评价指标探讨[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(4): 964-966.

[4] 杨磊,朱青,曹臣. 中药材储藏过程中的质量变化及其影响因素[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(6):95-97.

[5] 曾琳,吴怡,何明军,等. 超低温冷冻对益智种子生理生化特性的影响[J]. 广西植物, 2018, 38(4): 529-535.

[6] 张新静,于营,朴向民,等. 药用植物种子脱水耐性的形成及其贮藏的研究进展[J]. 特产研究, 2017, 39(4):58-62.

[7] 晋凡生,张彦琴,梁改梅,等. 贮藏温度和含水量对党参种子活力的影响[J]. 种子, 2020, 39(7):6-11.

[8] 金钺,杨成民,魏建和. 国家药用植物种质资源库中期库贮存7种药用植物种子生活力监测[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(9):1592-1595.

[9] 黄燕俊,马宏亮,王吉文,等. 不同处理方法及贮藏条件对鱼腥草种子萌发的影响研究[J]. 中药材, 2021, 44(2):290-293.

[10] 侯茜,胡锋,张帆,等. 不同种质资源和贮藏条件对秦艽种子发芽率的影响[J]. 中药材, 2014, 37(11): 1936-1937.

[11] 孙开照. 白花前胡种子发芽特性及贮藏技术研究[J]. 安徽农学通报, 2015, 21(14):144-145.

[12] 崔月曦,胡志刚,徐雷,等. 大别山区桔梗种子萌发及储藏条件的研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2016, 18(3):53-56.

[13] 李浪,刘团会,和燕,等. 贮藏温度对不同含水量党参种子活力的影响[J]. 现代中药研究与实践, 2021, 35(2):1-4.

[14] 胡家恕,朱诚,曾广文,等. 超干红花种子抗老化作用及其机理[J]. 植物生理学报, 1999, 25(2):171-177.

[15] 国家技术监督局. GB/T 3543—1995农作物种子检验规程[M]. 北京:中国标准出版社出版, 1995:40.

[16] 颜启传. 种子学[M]. 北京:中国农业出版社, 2001.

[17] 尹燕桦,董学会. 种子学实验技术[M]. 北京:中国农业出版社, 2008.

[18] 陈翠平,裴瑾,吴沂芸,等. 红花查尔酮异构酶基因的克隆分析表达及 HSYA 动态累积关系[J]. 中药材, 2016, 39(3):499-503.

[19] 李德铎,蔡杰,贺伟,等. 野生生物种质资源保护的进展和未来设想[J]. 中国科学院院刊, 2021, 36(4): 409-416.

[20] 李穆,高婷婷,郑淑波,等. 农作物种子老化研究进展[J]. 分子植物育种, 2021, doi: 46.1068. S. 20210318. 1114. 012.

[21] 卢新雄,陈叔平,刘旭,等. 农作物种质资源保存技术规范[M]. 北京:中国农业出版社, 2008.

[22] 文彬. 种子贮藏生理学发展史概略[J]. 自然辩证法通讯, 2008, 177(5):69-74.

[23] 宋松泉. 种子的脱水行为及其生理机制[C]//中国植物学会. 中国植物学会七十周年年会论文摘要汇编(1933—2003). 北京:中国植物学会, 2003:2.

[24] HONG T D, ELLIS R H. A protocol to determine seed storage behavior. IPGRI Technical Bulletin No. 1[M]. Rome: International Plant Genetic RESOURCES Institute, 1996.

[25] 郭兰萍. 第四次全国中药资源普查的实施准备[J]. 中国现代中药, 2009, 11(2):3.

[26] 杨梅,刘维,吴清华,等. 我国药用植物种质资源保存现状探讨[J]. 中药与临床, 2015, 6(1):4-7.

【责任编辑 顾雪竹】