

杨树林,杨太新,路宁宁. 不同采收时间珊瑚菜种子的产量及质量[J]. 江苏农业科学,2021,49(22):162-166.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.22.029

不同采收时间珊瑚菜种子的产量及质量

杨树林,杨太新,路宁宁

(河北农业大学农学院/省部共建华北作物改良与调控国家重点实验室/河北省作物生长调控实验室,河北保定 071001)

摘要:通过对不同采收时间珊瑚菜种子产量和质量的研究,确定其适宜采收时间,为珊瑚菜良种繁育和提高种子质量提供理论依据。结果表明,不同采收时间的珊瑚菜种子产量和质量差异显著。珊瑚菜种子的产量以 T3(6月25日)处理的最高,为 888.71 kg/hm²,且显著高于 T4(6月30日)处理的 706.69 kg/hm²;种子千粒质量和发芽率均随采收时间的推迟逐渐上升,T4处理的种子千粒质量和发芽率均达到最高,但均与 T3处理差异不显著。种子的 SOD、POD 和 CAT 活性随采收时间的推迟均表现出逐渐增高的变化趋势,均以 T4处理的活性最高。随采收时间的推迟,种子的 ABA、GA₃ 和 ZR 含量均呈逐渐下降的趋势,均以 T4处理的含量最低,种子的 IAA 含量呈先上升后下降的趋势,以 T2(6月20日)处理的最高,为 52.82 ng/g。从种子的产量及质量考虑,河北安国及周边地区的珊瑚菜种子适宜采收时间为 6月25日。

关键词:珊瑚菜;种子;采收时间;产量;质量

中图分类号: S567.23⁺9.04 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)22-0162-05

伞形科植物珊瑚菜 (*Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.) 为常用中药北沙参的基原植物。

北沙参性微寒,味甘、微苦,归肺、胃经,具有润肺益胃、养阴生津的功效^[1]。北沙参有着悠久的栽培历史和较成熟的种植加工技术,主产于河北安国、山东莱阳和内蒙古赤峰三大产区。其中河北安国所产的北沙参是“八大祁药”之一,习称“祁沙参”^[2]。

收稿日期:2021-03-09

基金项目:河北省中药材产业技术创新团队项目(编号:HBCT2018060202);太行山农业创新驿站安国药博园(编号:1717050)。

作者简介:杨树林(1996—),男,河北保定人,硕士研究生,研究方向为药用作物栽培。E-mail:1518632070@qq.com。

通信作者:杨太新,博士,教授,主要从事药用植物规范化栽培和管花肉苁蓉的科学。E-mail:yangtaixin@126.com。

珊瑚菜为伞形科植物,其种子成熟度不一致,质量参差不齐,严重影响了优良种苗的培育,最终影响药材质量。乔凯宁等研究了珊瑚菜种子质量的检验方法:千粒质量采用千粒法;含水率用低温

[10]何志勇,夏文水. 橄榄果实中酚类化合物的分析研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(26):11406-11407.

[11]何志勇. 橄榄酚类化合物的分离纯化和结构研究[D]. 无锡:江南大学,2007:60-61.

[12]Reichel M, Carle R, Sruamsiri P, et al. Changes in flavonoids and nonphenolic pigments during on-tree maturation and postharvest pericarp browning of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) as shown by HPLC-MSn [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(8):3924-3939.

[13]张上隆,陈昆松. 果实品质形成与调控的分子生理[M]. 北京:中国农业出版社,2007:208-219.

[14]林玉芳,杜正花,陈清西. 橄榄果实品质评价因子的筛选及指标确定[J]. 热带作物学报,2014,35(4):805-810.

[15]谢倩,张诗艳,叶清华,等. 鲜食橄榄发育成熟过程中多酚及相关酶活性的动态变化[J]. 果树学报,2019,36(6):774-784.

[16]沈玺龙,李永霞,张群英. 树莓鞣花酸提取纯化及生物活性的研究进展[J]. 山东化工,2019,48(14):94-96.

[17]Wu C Q, Huang H Q, Choi H Y, et al. Anti-esophageal cancer effect of corilagin extracted from *phlmlanthi fructus* via the mitochondrial and endoplasmic Reticulum stress pathways [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 269:113700.

[18]Sun B, Zhang R T, Liang Z C, et al. Hyperoside attenuates non-alcoholic fatty liver disease through targeting Nr4A1 in macrophages [J]. International Immunopharmacology, 2021, 94:107438.

[19]肖楚丽,李金成,李碧蓉,等. 对香豆酸对急性应激诱导小鼠记忆提取障碍的改善作用[J]. 中国药理学通报,2020,36(9):1248-1253.

[20]曹玉玺,吴祖芳,翁佩芳. 酚酸类物质对杨梅发酵酒贮藏期间色泽和挥发性风味物质的影响[J]. 食品科学,2021,42(11):78-85.

[21]张睿. 铁核桃果实发育过程中酚类代谢的转录组分析[D]. 贵阳:贵州大学,2019:65-67.

[22]陈建业. 葡萄酒中酚酸及葡萄果实苯丙烷类代谢途径研究[D]. 北京:中国农业大学,2005:61-62.

(105 ± 2) °C 烘干法, 烘干 8 h, 去果皮, 15 ~ 25 °C 变温条件下纸间培养^[3]。贾俊英等探讨了不同处理的珊瑚菜种子质量, 分成 3 个等级, 且研究显示, 沙藏后的种子发芽率均高于沙藏前的^[4]。舒春清等报道, 珊瑚菜留主茎果盘上的种子, 摘除侧枝小果盘, 以集中养分, 促使主茎果盘种子饱满^[5]。韩晓伟等研究表明, 低温沙藏能够降低抑制珊瑚菜种子萌发的香豆素类含量, 促进种子萌发的植物激素比例开始增加^[6]。但关于不同采收时间珊瑚菜种子的产量和质量研究未见报道, 本文研究了不同采收时间珊瑚菜种子的结实率、荚果长、荚果宽、含水率、千粒质量、发芽率等指标, 分析了种子的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性和脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、吲哚乙酸(IAA)、玉米素核苷(ZR)内源激素含量等生理指标, 旨在为进一步提高珊瑚菜种子质量和良种繁育提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

以安国药博园种植基地采收的珊瑚菜种子为试验材料, 经河北农业大学杨太新教授鉴定均为伞形科植物珊瑚菜的种子。

BS-223S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司); DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱(北京陆希科技有限公司); Agilent1260 型高效液相色谱仪(安捷伦中国科技有限公司); UH5300 型紫外分光光度计(上海天美科技有限公司); BIC-250 型智能光照培养箱(上海博迅实业有限公司); 台式高速冷冻离心机(德国希格玛离心机有限公司); NAI-DCY-24F 型氮吹仪(上海那艾精密仪器有限公司); KQ-300VDV 型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)等。

赤霉素、吲哚乙酸、玉米素核苷、脱落酸标准品和超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶试剂盒均购于北京索莱宝科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 珊瑚菜种子采收时间试验在安国药博园药材种植基地(115°33'30"E, 38°42'48"N)进行。自 2020 年 6 月 15 日起, 每隔 5 d 对珊瑚菜种子进行取样调查, 于 6 月 30 日结束取样, 分别记为 T1、T2、T3、T4。将不同采收时间的珊瑚菜种子, 用清水洗净, 去除杂质, 测定种子含水率及其 GA₃、

IAA、ZR、ABA 内源激素含量和 SOD、POD、CAT 活性的变化。放在阴凉处风干后, 测其结实率、果实长、果实宽、千粒质量等指标; 低温沙藏 3 个月后测定其发芽率。珊瑚菜种子取样时, 每次 3 点取样, 每样点 1 m², 精确称质量, 计算种子的产量, 产量(kg/hm²) = 单位面积种子质量(g/m²) × 667 m² × 15 × 10⁻³。

1.2.2 测定方法 (1) 含水率: 不同采收时间的珊瑚菜种子, 去除杂质后将其放在阴凉处风干, 将各采收时间的种子随机称取 3 份, 放入干燥样品盒中, 样品盒的质量为 m_1 , 称量并记录样品和样品盒总质量为 m_2 , 之后将其在低恒温(105 ± 2) °C 的烘箱中烘 8 h 至恒质量, 称量并记录此时样品和样品盒总质量 m_3 ^[3]。计算方如下:

$$\text{种子含水率} = (m_2 - m_3) / (m_2 - m_1) \times 100\%$$

(2) 千粒质量: 将珊瑚菜种子样品按不同采收时间随机取出 1 000 粒, 在电子分析天平上称质量, 并记录数据, 重复 3 次。

(3) 发芽率: 将不同采收时间的珊瑚菜种子在水中充分浸泡后按照沙、种质量比 3 : 1 进行混合, 在 4 °C 沙藏 90 d, 取出后洗净泥沙, 然后分别随机取出 50 粒, 在 15 ~ 25 °C 变温条件下进行纸间培养, 每天观察, 保证发芽床湿润, 记录发芽种子数, 以连续 3 d 无新种子发芽为观察终点, 重复 3 次, 比较不同采收时间的种子发芽率^[3]。

(4) 酶的提取与测定: 称量 0.100 g 沙藏后的珊瑚菜种子, 加入 1 mL 的磷酸液缓冲液进行冰浴匀浆; 离心 10 min, 取上清液, 放置冰上待测。采用北京索莱宝试剂盒法, 分别测定不同采收时间珊瑚菜种子的 SOD、POD 和 CAT 活性, 试验步骤和结果计算均按照试剂盒说明书操作。

(5) 内源激素含量测定: 色谱条件: 色谱柱 AgilentTC-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 甲醇作为流动相 A, pH 值 = 3 的冰乙酸作为流动相 B, 按照表 1 进行梯度洗脱; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL/次; 检测波长: 260 nm。

表 1 内源激素色谱柱洗脱

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0 ~ 50	25 → 90	75 → 10
50 ~ 55	90	10
55 ~ 70	25	75

对照品溶液的制备: 分别准确称取 5 mg 的 ABA、GA₃、IAA 和 ZR 标准样品, 甲醇溶解, 定容在

100 mL 棕色容量瓶中, 配制浓度为 50 mg/L 的混合母液, 再经过 0.45 μm 有机滤膜的过滤, 即得混合对照品溶液。

样品的制备: 称取 1.000 g 的珊瑚菜种子至预冷的研钵中, 加入 80% 的预冷甲醇溶液 8 mL (抗氧化剂 BTH), 研磨匀浆, 之后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下浸提 16 h。浸提液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、16 000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 10 mL 离心管中, 加入 0.2 g/g 的聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP) 去除酚类等杂质, 超声振荡 40 min, 过滤, 滤液过 C_{18} 固相萃取柱, 氮吹至水相 (1.5 ~ 2 mL)。用 1 mol/L 柠檬酸将水相调节到 pH 值 = 3.0, 加入 3 mL 乙酸乙酯进行萃取, 超声振荡

40 min, 将上部液体转移至新的离心管氮吹 (将乙酸乙酯吹干), 加 2 mL 的甲醇复溶, 过 0.45 μm 有机滤膜即进样品瓶, 与对照品共同测定^[7-8]。

线性关系建立: 将混合对照品溶液用 0.45 μm 有机滤膜过滤, 分别精密吸取混合对照品溶液 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5 μL , 注入样品瓶, 按上述色谱条件进样, 记录色谱图 (图 1)。以进样体积为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 并计算出回归方程: GA_3 , $Y_1 = 78.168X_1 + 42.405$ ($r_1^2 = 0.9997$); IAA , $Y_2 = 791.06X_2 + 9.434$ ($r_2^2 = 0.9993$); ABA , $Y_3 = 4798.9X_3 + 48.418$ ($r_3^2 = 0.9996$); ZR , $Y_4 = 89.121X_4 + 68.542$ ($r_4^2 = 0.9994$)。

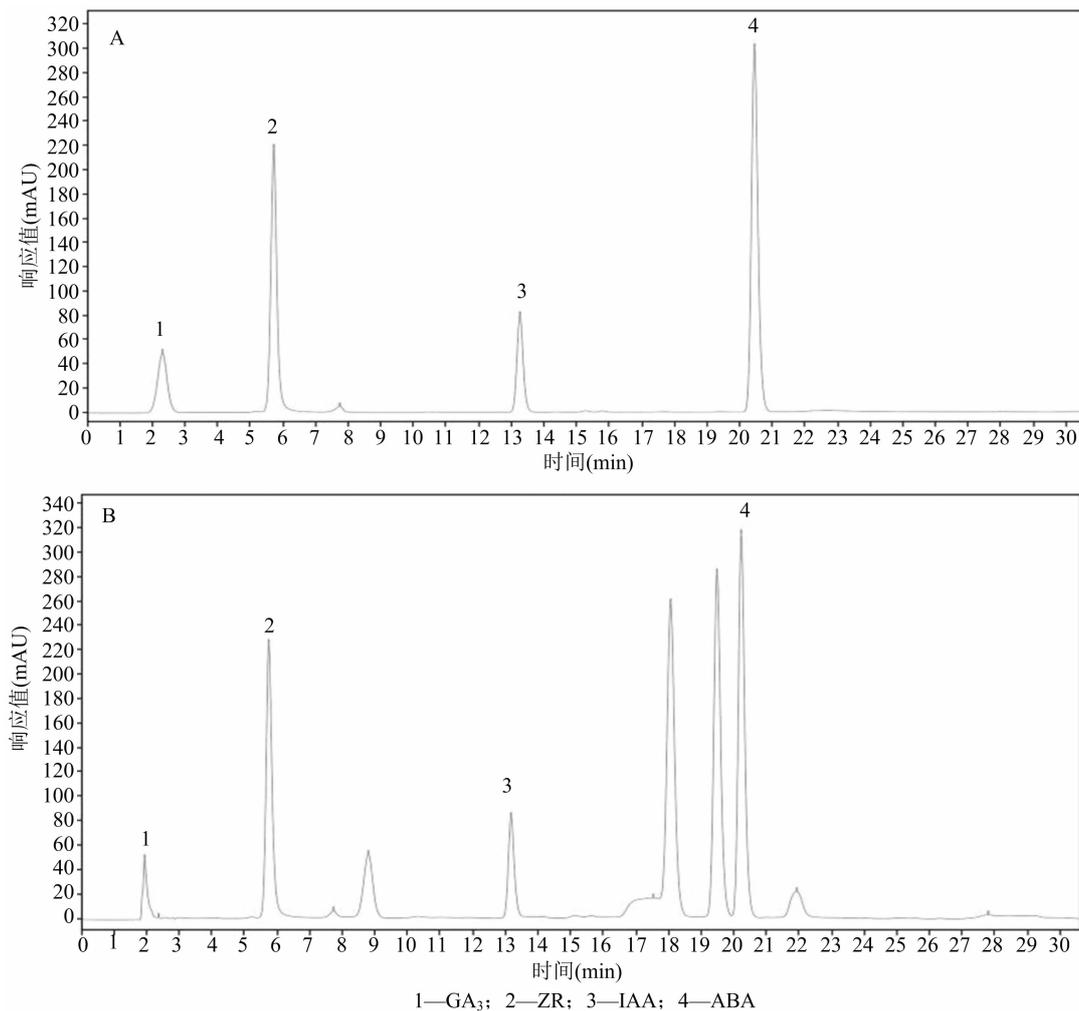


图1 混合对照品(A)和供试品(B)的高效液相色谱图

精密性试验: 取混合对照品, 20 μL 连续进样 5 次, 分别测定、记录 ABA、 GA_3 、IAA、ZR 峰面积, 计算 RSD。结果 ABA、 GA_3 、IAA、ZR 的 RSD 分别为 0.64%、0.49%、0.53%、0.75%。说明试验仪器精密密度良好。

重复性试验: 取同一样品 5 份, 在同一色谱条件下进行测定, 记录面积, 计算 RSD。结果 ABA、 GA_3 、IAA、ZR 的 RSD 分别为 2.03%、1.78%、1.64%、1.55%, 说明试验方法的重复性较好。

稳定性试验: 将供试样品溶液置于室温下, 分

别于 0、2、4、8、12、24、36 h 按上述色谱条件进行测定,记录 ABA、GA₃、IAA、ZR 峰面积,计算 RSD。结果 ABA、GA₃、IAA、ZR 的 RSD 分别为 1.98%、1.75%、1.23%、1.34%,结果说明样品成分含量至少在 36 h 内稳定。

1.3 数据处理

采用 Excel 2016 和 SPSS 23.0 软件进行数据处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同采收时间的珊瑚菜种子产量比较

由表 1 可知,不同采收时间的珊瑚菜种子结实率、荚果长、荚果宽和产量均差异显著。不同采收时间的荚果结实率以 T4 处理的最高,为 88.29%,T3 处理的次之,T1 处理的最低,为 75.13%;不同采收时间的荚果长与结实率表现相同的变化趋势,T4 处理的荚果长最长,为 11.75 mm,T3 处理的次之,T1 处理的最短,为 9.74 mm;不同采收时间的荚果宽以 T4 处理的最宽,为 8.52 mm,T3 处理的次之,T1 处理的最窄,仅为 7.42 mm;不同采收时间的珊瑚菜种子产量以 T3 处理的最高,为 888.71 kg/hm²,T2 处理的次之,T4 处理的最低,仅为 706.69 kg/hm²。

表 1 不同采收时间珊瑚菜种子外部形态及产量

采收时间	结实率 (%)	荚果长 (mm)	荚果宽 (mm)	产量 (kg/hm ²)
T1	75.13c	9.74c	7.42b	798.13c
T2	80.47b	10.69b	7.65b	827.85b
T3	83.66b	11.04b	8.35a	888.71a
T4	88.29a	11.75a	8.52a	706.69d

注:同列数据后不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著。下表同。

2.2 不同采收时间的珊瑚菜种子质量分析

由表 2 可知,不同采收时间种子的含水率、千粒质量和发芽率均差异显著。含水率以 T1 处理的 46.18% 最高,其次为 T2 处理的 29.53%,以 T4 处理的 8.06% 最低;千粒质量以 T4 处理的 21.55 g 最高,其次为 T3 处理的 20.41 g,两者差异不显著,但显著高于其他采收时间,T1 处理的 13.11 g 最低;不同采收时间种子的发芽率与千粒质量表现相同的变化趋势,发芽率以 T4 处理的 65.67% 最高,其次是 T3 处理的 63.39%,两者差异不显著,但显著高于其他采收时间,T1 处理的最低,仅为 22.64%。

2.3 不同采收时间珊瑚菜种子的酶活性分析

由表 3 可知,不同采收时间的珊瑚菜种子 SOD

表 2 不同采收时间的珊瑚菜种子质量指标

采收时间	含水率 (%)	千粒质量 (g)	发芽率 (%)
T1	46.18a	13.11b	22.64c
T2	29.53b	15.05b	37.36b
T3	12.14c	20.41a	63.39a
T4	8.06c	21.55a	65.67a

活性以 T4 处理的 139.37 U/g 最高,其次是 T3 处理的 134.52 U/g,两者差异不显著,但显著高于其他采收时间,以 T1 处理的 51.08 U/g 最低;不同采收时间的珊瑚菜种子 POD 和 CAT 活性表现出相同的变化趋势,不同采收时间的珊瑚菜种子 POD 活性以 T4 处理的 541.24 U/g 最高,其次是 T3 处理的 539.68 U/g,两者差异不显著,但显著高于其他采收时间,以 T1 处理的 332.53 U/g 最低;不同采收时间的珊瑚菜种子 CAT 活性以 T4 处理的 58.78 U/g 最高,其次是 T3 处理的 56.95 U/g,两者差异不显著,但显著高于其他采收时间,以 T1 处理的 31.48 U/g 最低。

表 3 不同采收时间珊瑚菜种子的酶活性

采收时间	SOD 活性 (U/g)	POD 活性 (U/g)	CAT 活性 (U/g)
T1	51.08c	332.53c	31.48c
T2	70.86b	457.31b	45.19b
T3	134.52a	539.68a	56.95a
T4	139.37a	541.24a	58.78a

2.4 不同采收时间珊瑚菜种子的内源激素含量分析

由表 4 可知,不同采收时间的珊瑚菜种子 ABA、GA₃ 和 ZR 含量均呈逐渐下降的变化趋势,IAA 含量呈先上升后下降的变化趋势。不同采收时间的珊瑚菜种子 ABA 含量以 T1 处理的 234.37 ng/g 最高,显著高于其他采收时间,以 T4 处理的 79.54 ng/g 最低;不同采收时间的珊瑚菜种子 IAA 含量以 T2 处理的 52.82 ng/g 最高,显著高于其他采收时间,以 T1 处理的 17.45 ng/g 最低;不同采收时间的珊瑚菜种子 GA₃ 含量以 T1 处理的 9.13 ng/g 最高,显著高于其他采收时间的,以 T4 处理的 5.79 ng/g 最低;不同采收时间的珊瑚菜种子 ZR 含量以 T1 处理的 11.10 ng/g 最高,显著高于其他采收时间,以 T4 处理的 7.21 ng/g 最低。

3 讨论与结论

药用植物因品种、生长环境、栽培技术和产地

表 4 不同采收时间珊瑚菜种子的内源激素含量

采收时间	ABA (ng/g)	IAA (ng/g)	GA ₃ (ng/g)	ZR (ng/g)
T1	234.37a	17.45b	9.13a	11.10a
T2	167.92b	52.82a	7.90ab	8.95b
T3	84.16c	28.14b	6.26bc	8.03b
T4	79.54c	26.61b	5.79c	7.21b

等因素的不同使药材种子的最佳采收期也不相同。关于不同采收时间对种子质量的影响,唐晓敏等对金钱草种子适宜采收期的研究表明,单株产量从盛花期 10~35 d 表现为先增加后减少的变化趋势,在 30 d 达到最大值 13.07 g,且种子质量表现为逐渐上升的变化趋势^[9]。可见,确定药材种子合理的采收时间有利于提高药材种子的产量和质量。目前,关于不同采收时间对珊瑚菜种子产量及质量的研究未见报道。本试验研究了不同采收时间珊瑚菜种子的产量和质量,结果表明:随着采收时间的推迟,种子结实率、荚果长和荚果宽均表现为逐渐升高至平稳的变化趋势,以 T4 处理的最高,分别为 88.29%、11.75 mm、8.52 mm;种子的产量表现为先增高后降低的变化趋势,以 T3 处理的最高,为 888.71 kg/hm²。种子含水率逐渐降低,T4 处理的含水率最低,为 8.06%。种子千粒质量和发芽率均呈逐渐上升的趋势,T4 处理的种子千粒质量和发芽率均最高,分别为 21.55 g、65.67%,但与 T3 处理的差异不显著。本试验研究结果与唐晓敏等对金钱草种子的研究结果^[9]基本相符。明确珊瑚菜种子适宜的采收时间,可为珊瑚菜留种田选择适宜生长周期的间作作物提供理论依据。

关于种子发育过程中生理指标的变化,严福林等对黔产南沙参(*Adenophora tetraphylla*)种子适宜采收期的研究表明,在一定时期内,种子的 SOD 和 POD 活性等指标随采收时间的推移呈上升的变化趋势^[10]。郭宇等对西瓜种子不同发育时期内源激素含量变化的研究表明,2 个品系西瓜的不同发育阶段种子内 IAA 含量呈先下降后上升再下降的变化趋势;ABA 含量在开花后的 8~12 d 均迅速上升,至 18 d 时达到峰值,在 22 d 后种子趋于成熟时,ABA 的含量则有所降低,待种子完全成熟时,ABA 含量维持在一个相对平稳的状态;ZR 和 GA₃ 含量均呈先上升后下降的变化趋势^[11]。目前,关于不同采收时间珊瑚菜种子生理指标的变化未见报道,本

试验对不同采收时间珊瑚菜种子生理指标变化的研究表明:珊瑚菜种子的 SOD、POD 和 CAT 活性随采收时间的推迟均表现逐渐增高的变化趋势,以 T4 处理的活性最高,分别为 139.37、541.24、58.78 U/g,但与 T3 处理的差异不显著。另外,本试验结果还表明:珊瑚菜种子的 ABA、GA₃ 和 ZR 含量随采收时间的推迟均呈逐渐下降的变化趋势,均以 T4 处理的含量最低,分别为 79.54、5.79、7.21 ng/g;IAA 含量呈先上升后下降的变化趋势,以 T2 处理的最高,为 52.82 ng/g。本试验研究结果揭示了珊瑚菜种子发育过程中 3 种保护酶活性的变化趋势,并可为揭示珊瑚菜种子发育过程中激素调节机制提供参考依据。

综上,从珊瑚菜种子的产量和质量及生理指标综合考虑,河北安国及周边地区珊瑚菜种子适宜采收时间为 6 月 25 日。确定珊瑚菜种子适宜的采收时间,为河北安国及周边地区珊瑚菜种子时期采收以实现良种繁育和人工种植推广提供理论依据。另外,有关如何提高采收后珊瑚菜种子的质量研究较少,不同调节剂对珊瑚菜种子发芽率及内含物质变化的影响有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 2020 版. 北京:中国医药科技出版社,2020:103-104.
- [2] 许保海,赵惠萍,李静. 北沙参本草考证及道地产地探源[J]. 中国药业,2017,26(23):28-30.
- [3] 乔凯宁,杨太新,刘晓清. 祁沙参种子质量检验方法的研究[J]. 种子,2017,36(2):123-126.
- [4] 贾俊英,杨敏,徐建平,等. 北沙参种子质量分级标准初探[J]. 农学学报,2019,9(8):41-47.
- [5] 舒春清,郭杰,石玉文,等. 北沙参栽培技术与繁殖方法[J]. 种子世界,2005(12):36-37.
- [6] 韩晓伟,冯建明,严玉平,等. 香豆素和植物激素对北沙参种子萌发的影响[J]. 种子,2018,37(12):97-101.
- [7] 周茨,武玉祥,李永霞,等. 高效液相色谱测定蓝莓叶片内源激素的方法研究[J]. 中国果树,2018(3):88-91.
- [8] 肖爱华,陈发菊,贾忠奎,等. 梯度洗脱高效液相色谱法测定红花草玉中 4 种植物激素[J]. 分析试验室,2020,39(3):249-254.
- [9] 唐晓敏,程轩轩,张春荣,等. 广金钱草种子适宜采收期研究[J]. 种子,2018,37(3):98-101.
- [10] 严福林,谭云飞,杨川力,等. 黔产南沙参(*Adenophora tetraphylla*)种子适宜采收期[J]. 北方园艺,2019(13):135-139.
- [11] 郭宇,高美玲,刘秀杰,等. 西瓜种子不同发育时期内源激素含量变化[J]. 基因组学与应用生物学,2020,39(9):4154-4161.