

根。选择适宜的生长素(IBA)种类,且控制其剂量,是进一步提高生根质量的关键。光照条件下马尿泡的生根效果较好。

3.3 马尿泡野生植株上的休眠芽可以作为离体培养的良好外植体。主芽周围基部的侧芽是适宜诱导分化的最适外植体;无菌苗的幼叶、叶基和叶柄是适宜愈伤组织诱导的最适外植体。马尿泡芽的最适分化培养基是:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。最适生根培养基是:1/2 MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 3%。愈伤组织诱导培养基:MS+2,4-D 1.0~2.0 mg/L+NAA 0.2~0.5 mg/L+6-BA 0.2~0.5 mg/L。

参考文献:

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志 [M]. 西宁:青海人民出版社,1991.
- [2] 刘尚武. 青海植物志 [M]. 西宁:青海人民出版社,1996.
- [3] 黄玉清,杨琳琳. 药用植物资源研究成果集萃 [J]. 植物杂志,1993,20(2):8-10.
- [4] 王荷生,张德铨. 中国种子植物特有科属的分布型 [J]. 地理学报,1994,49(5):403-417.
- [5] 倪志诚,李晖. 青藏高原及毗邻地区种子植物特有属中的重要经济植物 [J]. 西藏科技,1995,3:47-53,40.
- [6] 郝日明. 试论中国种子植物特有属的分布区类型 [J]. 植物分类学报,1997,35(6):500-510.
- [7] 王环,潘莉,张晓峰. HPLC法测定天仙子和马尿泡中3中托烷类生物碱的含量 [J]. 西北药学杂志,2002,17(1):9-10.
- [8] 沈进. 两种药用植物化学成分及多肽二硫键形成方法的研究 [D]. 成都:中国科学院成都生物研究所,2004.
- [9] 胡尚连. 植物生物技术 [M]. 成都:西南交通大学出版社,2004.

桔梗种子的成熟生理动态研究

刘自刚*

(商洛学院 生物医药工程系,陕西 商洛 726000)

摘要:目的 揭示桔梗种子成熟过程的生理动态变化,为桔梗良种的生产提供理论依据。方法 采用统一挂牌分期取样,测定不同成熟度种子的千粒质量、发芽率、电导率、POD活性和MDA的量。结果 桔梗开花后55 d千粒质量达到最大为1.214 g,但此时种子发芽率仅为53.0%,开花后55~61 d千粒质量开始逐渐下降,但发芽率却迅速上升,61 d时达到最大为93.3%,此时种子细胞膜结构完整性高,POD活性也最高,种子性能达到最佳状态。结论 开花后61 d,桔梗种子可完全成熟,种子成熟过程中存在生理后熟现象,后熟期约为6 d。

关键词:桔梗;种子;成熟生理

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)02-0300-04

桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 属于桔梗科桔梗属,多年生双子叶草本,是一种药、食、赏兼用植物^[1]。近年来,桔梗抗衰老、抑癌、杀虫杀菌和气味掩蔽剂等功效相继被发现,使社会对桔梗原材料的需求迅速增加,单靠野生桔梗资源已不能满足需求。在此情况下,各地开展了桔梗野生种驯化和桔梗规模化栽培技术的研究,但制约桔梗生产发展的一个重要因素是其种源短缺问题,目前,桔梗种子生产处于半原始的传统生产状态,种子往往是药材生产的副产品^[1],或者从野生桔梗中直接采集获得,所得的种子质量普遍较差,其千粒质量平均仅0.83 g,田间出苗率仅为1%左右,严重影响了桔梗生产的发展^[2]。本实验针对桔梗生产中存在的上述问题,研究桔梗开花后种子成熟的动态,探讨桔梗开花后的天数与种子成熟度之间的关系,旨在

为桔梗的良种生产提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料:研究材料为陕西省商洛市境内2年生桔梗地方种居群,2005年3月播种,2006年4月移栽。试验地位于北纬33.54',东经109.53',地处秦岭南坡受东南季风影响,年平均降水量725.5 mm,平均海拔722 m,砂壤土。最热为7月,平均气温24℃,最冷为1月,平均0.3℃,年平均气温12.8℃。绝对无霜期为180 d左右。

1.2 方法

1.2.1 取样方法:于2007年7月23日,在多年生桔梗群体中选取当日开放花朵1000朵,挂牌标记,从开花后第25天开始取果实,之后每隔3 d取样1次,直到9月28日为止,共取样15次,每次取果实60个并分为两份,1份测定种子千粒质量、发芽率、

* 收稿日期:2008-04-29

基金项目:陕西省科学技术研究发展计划项目[2008K16-02(01)]。

作者简介:刘自刚(1975—),男,汉,甘肃天水人,讲师,硕士,从事中草药种质资源及育种研究工作。

Tel:13991463731 E-mail:lzgzgworking@163.com

发芽垫、发霉率,发霉率结合发芽测定一同进行,另 1 份冰浴带回实验室测定种子电导率、过氧化物酶活性(POD)和丙二醛(MDA)的量。

1.2.2 种子发芽率和发芽势测定:不同成熟度种子各取 100 粒,培养皿垫双层滤纸作为发芽床,25 光培养,胚根与种子等长为种子发芽标准。重复 3 次。

千粒质量增长量为开花后天数除相当天数的千粒质量;成熟度为开花后第 55 天的千粒质量,即最大千粒质量 1.214 g 除相当天数的千粒质量所得;成熟度增长量为开花后天数除相当天数的成熟度。

1.2.3 电导率测定:称取去壳种子 1 g,去离子水冲洗种子表面,放入烧杯中,加 50 mL 去离子水,25 浸泡 24 h,用 DDS—11A 型电导仪测定浸泡液的电导率。重复 2 次。

1.2.4 丙二醛(MDA)和过氧化物酶活性(POD)的测定参照李合生等的方法^[3]。

2 结果与分析

2.1 种子千粒质量、成熟度动态变化:桔梗种子发育天数与成熟度的关系见表 1。在种子发育过程中,千粒质量的变化范围在 0.4~1.214 g,从开花后 25 d 至种子成熟,随种子发育天数的增加,千粒质

量也逐渐增加,并于开花后的第 55 天达到最大为 1.214 g,之后开始降低。从千粒质量日增长量来看,从开花后第 25~58 天,种子千粒质量日增长变化幅度较小,表明在这段时期内种子干物质增加比较稳定,每天增长 0.020~0.022 g;从开花后 55 d(9 月 16 日)开始,桔梗种子千粒质量不再增加反而有所减小,其原因可能是此时已进入秋季,气候由暖入寒,季节变化引起桔梗物质生产逐渐减慢、生长停止,地上部分开始变黄枯萎,而此时储存在植株中的有机物质主要流向桔梗的主要代谢库根部,而不是种子,另一方面,可能桔梗种子具有生理后熟特性,在此过程中种子呼吸作用加强,消耗了种子贮存物而使种子变轻,千粒质量下降。

由表 1 还可以看出,随开花后天数的增加种子成熟度的变化情况,开花后 25 d 成熟度为 40.8%,之后逐渐增加,至开花后 55 d 达到最大为 100%,之后成熟度迅速下降。从成熟度的日增加量来看,成熟度的增加较为平稳,其范围为(1.49~1.82)%/d。因此,桔梗种子千粒质量、成熟度达到最大值需要 55 d,是个平稳渐进的过程,之后出现一个急剧下降的阶段,可能与桔梗有机物质运输贮藏特点、生理后熟特性及种子的田间腐蚀老化等因素有关。

表 1 种子千粒质量、成熟度和发芽率随种子发育时间的变化

Table 1 Change of thousand seed weight, maturity, and germination rate with seeds developing duration

采种日期	花后天数 /d	千粒质量 /g	千粒质量增长量 /(mg·d ⁻¹)	成熟度 /%	成熟度增长量 /(%·d ⁻¹)	发芽指数 /(%·d ⁻¹)	发芽率/%		
							第 6 天	第 8 天	第 10 天
08-17	25	0.495	20	40.8	1.63	0.49	0.0	0.0	1.7
08-20	28	0.589	21	48.5	1.73	0.65	0.0	0.3	4.7
08-23	31	0.644	21	53.0	1.71	0.18	0.0	1.3	6.0
08-26	34	0.714	21	58.8	1.73	1.03	0.0	2.3	9.3
08-29	37	0.806	22	66.4	1.79	1.83	0.0	2.3	17.0
09-01	40	0.872	22	71.8	1.80	3.82	0.0	8.7	32.7
09-04	43	0.949	22	78.2	1.82	3.93	0.7	13.3	33.0
09-07	46	0.991	22	81.6	1.77	4.37	1.3	14.7	37.7
09-10	49	1.023	21	84.3	1.72	5.18	1.7	15.0	45.0
09-13	52	1.071	21	88.2	1.70	5.20	2.0	16.7	47.7
09-16	55	1.214	22	100.0	1.82	6.41	2.7	25.0	53.0
09-19	58	1.137	20	93.7	1.61	10.79	23.3	63.0	77.0
09-22	61	1.100	18	90.6	1.49	13.02	24.3	78.0	93.3
09-25	64	1.025	16	40.8	1.63	12.50	24.0	69.3	90.7
09-28	67	0.931	14	48.5	1.73	10.52	14.3	63.4	88.7

2.2 种子发芽的变化:桔梗种子双层滤纸培养 5 d 开始发芽,7、8 d 达到发芽高峰期,11 d 发芽基本结束。开花后时间对桔梗种子发芽率有明显影响。发育前期,种子发芽率随开花后时间的延迟而逐渐增加,但到发育后期,种子发芽率不再增加,反而明显下降。这可能是因为前期种子处在生长发育阶段,随着发育时间的增加,种子逐渐发育完善和成熟,发

芽率因而逐渐增加,当种子一旦达到一定成熟度后,发芽率则不再增加,此时如不及时收获而仍保留在田间,由于温度、水分等因素的交替变化以及微生物的活动,均可引起种子田间劣变老化,导致发芽率下降。从表 2 中还可以看出,发育不完全的种子发芽速度较慢,开始发芽的时间较长;开花后 61 d 的成熟种子,培养第 5 天就开始发芽,第 6~8 天达到发

芽高峰;而开花后 40 d 以前的种子,培养 8 d 才开始发芽,发芽的初始时间比成熟种延迟了 3 d。

种子千粒质量与发芽率的关系见表 2,在种子发育前期,随千粒质量的增加种子发芽率逐渐增加,开花后 55 d 千粒质量达到最大 1.214 g,表明种子已经达到形态成熟,但是此时种子发芽率仅为 53.0%;开花后 55~61 d 千粒质量开始逐渐下降,但发芽率却迅速上升,61 d 时达到最大为 93.3%。这种现象提示桔梗种子达到形态成熟后,在其内部可能还需经历一个复杂的生理后熟过程,才能达到种子的完全成熟,种子完成生理后熟作用的时间在开花后 55~61 d,完成这一过程约需 6 d。

从开花到种子成熟,虽然其成熟度、千粒质量的增加是一个平缓渐进的过程,但发芽率的增加明显出现一个高峰,即开花后 25~55 d,发芽率平均每天增加仅 1.71%,而 55~61 d 提高速度明显加快,平

均每天增加 6.72%,发芽率增加出现的高峰主要是由于种子完成生理后熟作用引起的。

2.3 种子成熟过程中电导率的变化:电导率是衡量种子细胞膜结构完整性的重要指标,电导率低表明种子膜结构完整性较好,细胞膜具有良好的选择透性,细胞内容物不易外渗,种子性能也较好^[4,5]。由表 2 可以看出,随着开花后天数的增加种子电导率逐渐降低,开花后 61 d 电导率达到最小为 390 $\mu\text{s}/(\text{cm} \cdot \text{g})$,之后随着种子田间劣变老化的开始,种子电导率开始上升;表明随种的发育细胞膜性能逐渐改善,种子完全成熟时膜完整性也最好。种子发霉率与电导率变化趋势相同,即花后 25~61 d 逐渐降低,之后开始升高。种子电导率和发霉率具有相同的变化趋势,因为种子电导率较高表明质膜完整性较差,细胞内容物较易外渗,使种子带菌较为严重,造成发芽时种子易霉变。

表 2 种子成熟过程中生理特性的变化

Table 2 Change of physiological characteristics with seeds ripening process

序号	采种日期	花后天数/d	种子发芽率/%	电导率/ ($\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)	POD 活性/ ($A_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)	MDA/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	08-17	25	79.3	71.6	0.647	2.13
2	08-20	28	69.7	652	0.603	3.24
3	08-23	31	53.0	625	0.587	3.39
4	08-26	34	50.3	597	0.547	5.70
5	08-29	37	36.0	573	0.463	5.84
6	09-01	40	22.3	518	0.417	5.94
7	09-04	43	20.0	517	0.390	6.07
8	09-07	46	10.3	478	0.347	6.01
9	09-10	49	9.0	458	0.580	6.54
10	09-13	52	6.3	449	0.793	6.53
11	09-16	55	4.0	443	0.843	7.70
12	09-19	58	3.0	438	1.083	7.95
13	09-22	61	1.0	390	3.750	8.94
14	09-25	64	2.0	403	2.523	9.50
15	09-28	67	6.0	422	2.287	10.03

2.4 种子成熟过程中 POD 活性的变化:POD 是植物保护酶系统的重要成员,负责清除过氧化过程中产生的自由基,从而保护细胞膜脂免遭自由基攻击^[6]。一般认为种子 POD 活性与种子性能成正相关^[7,8]。由表 2 可以看出随着种子的发育 POD 活性变化的总趋势是先平缓下降,到开花后 49 d 开始上升,61 d 达到最高,之后又出现下降趋势。开花后 25~49 d 种子还处在发育的前期,这段时期内种子 POD 活性略有下降变化较为平缓;开花后 49~61 d 种子 POD 活性上升较为迅速,可能是因为这一时期内有呼吸跃变和生理后熟作用发生,种子内部物质代谢和消耗加剧,产生较多的各种自由基和过氧化物,从而诱导 POD 的合成或促使其活性被激活,因

此在这一发育时期种子 POD 活性明显上升;开花 61 d 以后,由于种子已完全成熟,种子开始急剧脱水并逐渐老化,使得桔梗种子内 POD 由活化状态转变为钝化状态,因此活性有所降低。

2.5 种子成熟过程中 MDA 量的变化:MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其量是判断膜脂过氧化程度的重要指标^[9]。种子发育过程中 MDA 的量变化见表 2,随着种子的不断成熟其 MDA 的量呈升高趋势,表明种子 MDA 的量是一个逐渐累积的过程,随着植株的整体衰老,其量也在不断增加。

3 讨论

植物传粉受精后,受精卵发育成种胚,胚珠发育成种子,种子形成后在母体上不断地生长发育,最终

形成有发芽能力的成熟种子,种子的成熟过程不只是在形态上发生很大变化,而且在生理生化上也发生剧烈变化。对桔梗种子成熟过程中生理变化的研究表明,桔梗种子成熟过程是一个生理特性逐步变化的过程;种子发育期,电导率逐渐下降,细胞膜完整性趋于完善,膜的选择透性也不断提高;此时 POD 活性先平缓下降,而后逐渐升高直到种子完全成熟,之后又下降;而 MDA 的量随着种子的成熟老化有一个逐步积累的过程。值得注意的是,当种子发育到开花后的第 61 天时,其总体生理性能达到最佳状态,保护酶活性最高可有效消除自由基对种子造成的伤害,细胞膜完整性最好,可有效防止由于细胞内容物的大量外渗而引起的种子带菌,此时种子活力和发芽率也达到最高值,之后随着种子的田间腐蚀老化,各项指标迅速劣变,因此认为开花后 61 d 收获的种子其性能达到最佳状态。

严一宇^[10]等研究了桔梗种子成熟过程中千粒质量、成熟度变化及与发芽率的关系后认为,千粒质量最大时的种子发芽率也最高,这一结论与笔者的研究结果不符,可能是由于研究中所用材料不同引起的。本研究表明随着种子不断成熟千粒质量不断增加,开花后 55 d 达到最大,但此时种子发芽率仅为 53.0%,而桔梗的最高发芽率出现在开花后的第 61 天;开花后 55~61 d 千粒质量开始逐渐下降,但发芽率却迅速上升,61 d 时达到最大为 93.3%。这种现象提示桔梗种子达到形态成熟后,在其内部可能还需经历一个复杂的生理后熟过程,才能达到种子的完全成熟,完成生理后熟作用的时间在开花后

55~61 d,完成这一过程约需 6 d。

种子千粒质量在开花后 55 d 达到最大之后开始下降,千粒质量下降的原因可能与桔梗种子的生理后熟作用有关,种子后熟作用发生在秋季,此时气候已由暖入寒,季节变化引起桔梗物质生产逐渐减慢、生长停止,地上部分开始变黄枯萎,而此时储存在植株中的有机物质主要流向桔梗的主要代谢库根部,而不是种子;另一方面,种子后熟过程中呼吸作用急剧加强,种子贮存物被大量消耗而使种子变轻,造成千粒质量下降。

参考文献:

- [1] 刘自刚,张 雁. KH_2PO_4 和青霉素对桔梗种子发芽的影响[J]. 种子, 2007, 26(11): 71-72.
- [2] 朱玉灵,吴 涛. 桔梗外植体的离体培养和植株再生[J]. 安徽农业科学, 2000, 28(1): 93-94.
- [3] 李合生,孙 群,赵世杰,等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2001.
- [4] 胡根海,喻树迅,范术丽,等. 陆地棉超氧化物歧化酶基因的克隆与烟草转化[J]. 西北植物学报, 2007, 27(11): 2169-2174.
- [5] Wang X F, Jing X M, Lin J, et al. Studies on membrane function and sugar components of ultradried seeds[J]. Acta Bot Sin, 2003, 45(1): 23-31.
- [6] 韩胜芳,邓若磊,徐海荣,等. 缺磷条件下不同磷效率水稻品种光合特性和细胞保护酶活性[J]. 应用生态学报, 2007, 18(11): 2462-2467.
- [7] 孙红梅,辛 霞,林 坚,等. 温度对玉米种子贮藏最适合水量的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(5): 656-662.
- [8] Xiong L M, Zhu J K. Regulation of abscisic acid biosynthesis[J]. Plant Physiol, 2003, 133(2): 29-36.
- [9] 江 萍,王小平,王雪莲,等. 高温胁迫对文冠果保护酶系统酶活性的影响研究[J]. 北方园艺, 2008, 21(1): 28-32.
- [10] 严一宇,吴基日,吴松权,等. 桔梗种子成熟天数与成熟度及发芽率的关系[J]. 延边大学农学报, 2005, 27(4): 244-248.

啶虫脒在枸杞中的残留动态分析

周 峰¹,于 晶¹,李卫建²,陈 君^{1*},徐 荣^{*}

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所,北京 100193; 2. 农业部环境质量监督检验测试中心,天津 300191)

摘 要:目的 研究啶虫脒在枸杞中的残留动态。方法 采用气相色谱法,样品经乙腈提取,弗罗里矽色谱柱净化,采用 HP-5 柱,载气为氮气,体积流量 1 mL/min;进样口温度 200、柱温 180、检测器 320。结果 样品的添加回收率为 89.5%~93.5%,RSD 为 2.19%。啶虫脒在枸杞中的半衰期为 2.16 d,施药 14 d 后残留量降至 9.3 $\mu\text{g/kg}$,最终残留在 4.0 $\mu\text{g/kg}$ 以下。结论 在正常喷药浓度的加倍剂量 1 000 倍条件下,根据不同标准,枸杞的安全采收间隔期为 5~9 d 以上。

关键词:啶虫脒;枸杞;残留动态;气相色谱法

* 收稿日期:2008-05-28

基金项目:科研院所社会公益研究专项(2004DIB1J039)

作者简介:周 峰(1984—),男,中国医学科学院药用植物研究所 06 级硕士研究生,研究方向为药用植物栽培与保护。

Tel: (010) 62820904 E-mail: feng5412@126.com

*通讯作者 陈 君 Tel: (010) 62899731 E-mail: junzichen@263.com