

研究报告

DOI:10.14188/j.ajsh.20240704001

超低温反复冻融对药用植物种子活力影响的研究

黄美琴, 曾琳*, 符丽, 孙政, 何柳

(中国医学科学院 北京协和医院 药用植物研究所海南分所

海南省南药资源保护与开发重点实验室, 海南 海口 570311)

摘要: 为了探讨超低温反复冻融对药用植物种子活力的影响, 选取了红花、玉米和黑豆3种药用植物的成熟种子作为实验对象, 通过设置不同的冻融置留时间和次数进行实验, 评估种子的生活力、发芽率以及生理生化指标的变化特性。结果显示, 冻融置留时间和次数对种子的生活力和发芽率影响不显著, 尤其是玉米种子, 尽管发芽率有所下降, 但仍保持在90%以上。此外, 种子的过氧化物酶和过氧化氢酶活性在置留0 h至2 d内变化显著, 之后趋于稳定, 这可能是由于超低温冷冻胁迫初期影响了种子活性氧清除系统的能力。随着置留时间的延长, 种子内部酶系统逐渐恢复平衡。研究还发现, 冻融过程中丙二醛含量和电导率无显著变化, 表明反复冻融未对药用植物种子造成严重损害。综合分析发现, 液氮超低温反复冻融对正常性药用植物种子活力无显著影响, 为药用植物种质资源的长期保存提供了理论和实践支持。

关键词: 超低温保存; 反复冻融; 药用植物种子; 种子活力

中图分类号: Q4-33

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2024)06-0582-08

Impact of cryopreservation freeze-thaw cycles on the viability of medicinal plant seeds

HUANG Meiqin, ZENG Lin*, FU Li, SUN Zheng, HE Liu

(Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine, Hainan Branch of the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Haikou 570311, Hainan, China)

Abstract: In order to investigate the effects of cryopreservation freeze-thaw cycles on the viability of medicinal plant seeds, mature seeds of three medicinal plants, namely *Carthamus tinctorius* L., *Zea mays* L. and *Glycine max* (L.) Merr., were selected as experimental subjects. The viability, germination rate and physiological and biochemical indexes were evaluated by setting different freeze-thaw retention times and frequencies. The results showed that the effects of freeze-thaw retention time and frequency on seed viability and germination rate are not significant, especially for *Zea mays* L. seeds, which still remain above 90% despite a decrease in germination rate. In addition, the peroxidase and catalase activities of these seeds vary significantly from 0 h to 2 days, and then stabilize, which may be due to the initial impact of the ultra-low temperature freezing stress on the seed capacity of the reactive oxygen species scavenging system. With the prolongation of the retention time, the internal enzyme system of the seeds gradually regain its balance. It is also found that there are no significant changes in malondialdehyde content and conductivity during the freezing and thawing process,

收稿日期: 2024-07-04 修回日期: 2024-11-26 接受日期: 2024-12-05

作者简介: 黄美琴(1999-), 女, 本科, 科研助理, 主要从事药用植物种子冻后发芽研究。E-mail: 2645410608@qq.com

* 通讯联系人: 曾琳(1986-), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向为药用植物种子保存。E-mail: zenglin00186@126.com

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2021-12M-1-032)

引用格式: 黄美琴, 曾琳, 符丽, 等. 超低温反复冻融对药用植物种子活力影响的研究[J]. 生物资源, 2024, 46(6): 582-589.

Huang M Q, Zeng L, Fu L, et al. Impact of cryopreservation freeze-thaw cycles on the viability of medicinal plant seeds [J]. Biotic Resources, 2024, 46(6): 582-589.

which indicate that cryopreservation freeze-thaw cycles do not cause serious damage to the seeds of medicinal plants. It is concluded that the freeze-thaw cycles of liquid nitrogen at ultra-low temperatures have no significant effect on the seed viability of normal medicinal plants, which provides theoretical and practical support for the long-term conservation of medicinal plant germplasm resources.

Key words: cryopreservation; freeze-thaw cycles; seeds of medicinal plants; seed viability

0 引言

相较于传统的种质保存方法,超低温保存技术具有显著优势,如不受季节、土壤、气候等自然环境条件的限制,能有效避免病虫害,同时保持遗传稳定性,延长保存时间,并降低维护成本^[1]。因此,它被认为是种质资源长期安全保存的有效手段。此外,超低温保存技术已成为珍稀濒危药用植物离体保存的常用方法,目前已采用这一技术对近20种珍稀濒危药用植物成功进行了保存^[2]。在液氮(-196℃)的超低温条件下,植物材料的细胞分裂和代谢活动几乎完全停止^[3],理论上可以实现无限期的保存。例如,韭菜种子在常温下通常只能保存一年,在0℃左右的环境中保存2~3年后,其发芽率会显著下降,无法再用于种植;然而,通过超低温保存,韭菜种子能够保持其原有的生命力^[4]。

近年来,超低温保存药用植物种质资源的相关研究多集中在比较冷冻前后材料的细胞和形态变化方面^[5],关于超低温保存过程反复冻融对种子影响的研究相对较少。考虑到从超低温种质库中取出种子进行活力复测和种质交流时,反复冻融可能对种质产生影响,这一问题值得深入探讨。

本文旨在探究超低温反复冻融对药用植物种子生活力、发芽率和生理指标的影响,为种质库的药用植物种子超低温保存提供实验依据。种子活力是评估种子品质的关键指标,它不仅影响种子贮藏和萌发,还直接关系到种子的质量和产量。电导率、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)是评估超低温保存对种子影响的常用生理指标^[6-10]。研究表明,种子活力下降与膜脂过氧化作用密切相关,而电导率和MDA是反映细胞膜脂过氧化程度的重要指标^[11,12]。电导率的增加可能表明细胞膜完整性受损,而MDA作为膜脂过氧化的最终产物之一,会抑制SOD、CAT、POD等细胞保护酶的活性。SOD、POD、CAT作为种子体内的抗氧化保护系统,其活性直接反映种子的活力^[13,14]。因此,种子在超低温反复冻融过程中抗氧化酶活性的变化可以作为评估种子活力的重要参考。

本研究选择红花(*Carthamus tinctorius* L.)、玉米(*Zea mays* L.)和黑豆(*Glycine max*(L.) Merr.)种子为对象进行实验。红花是一种常用的中药,具有活血化瘀、温经通脉等功效^[15],其种子“白平子”,外部的果皮坚硬,由种壳和核仁组成^[16]。玉米作为一种常用的药用植物谷类作物,具有调中开胃、益肺宁心等功效,其种子胚乳较大,吸湿性强,贮藏条件较为特殊^[17,18]。黑豆属于豆科植物,是一种药食同源的作物,富含蛋白质、花色苷等生物活性物质,具有抗氧化、降血糖、抗炎症等功效^[19-22]。本研究选择3种不同类型的药用植物种子进行实验,旨在从种子多样性的角度探讨不同植物种子在冻融过程中的活力变化。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为国家南药基因资源库提供的3种正常性药用植物(红花、玉米和黑豆)的成熟种子。

1.2 主要试剂和仪器

1)主要试剂:过氧化氢(H₂O₂)含量检测试剂,MDA含量检测试剂,超氧阴离子含量检测试剂,POD活性检测试剂。

2)主要仪器:岛津UV-1900i分光光度计,分奥豪斯CP512电子分析天平,金凤液氮储存罐。

1.3 试验方法

1.3.1 置留时间

称取80 g种子,将其分别放入编号为CK、0 h、0.5 h、2 h、4 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d的保管管中。CK组为对照组,在常温条件下保存。其余各组种子首先在液氮罐中直接冷冻保存24 h,然后取出并在40℃水浴锅中解冻10 min。编号0 h组的种子在解冻后立即进行发芽率、生活力和生理活性的测定。其余各组种子先在对编号的置留时间(0.5 h、2 h、4 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d)内常温静置,然后再进行冷冻和解冻过程,最后测定其发芽率、生活力和生理活性指标。

1.3.2 冻融次数

称取80 g种子,将其分别放入编号为CK、4 h₁、4 h₂、4 h₃、4 h₄、4 h₅的冻存管中。CK组为对照组,在

常温条件下进行种子生活力、发芽率和生理活性的检测。采用直接冷冻法将其余各组种子投入液氮中,进行1~5次的冻融循环(每次循环包括液氮中冻存24 h,取出后在40℃水浴解冻10 min,室温下放置4 h,再次冷冻)。每个循环结束后,测定种子的发芽率、生活力和生理活性指标。

1.4 种子活力测定

1)种子生活力测定。采用2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazoliumchloride, TTC)测定法测定种子生活力。精密称取1 g TTC粉末,加入磷酸二氢钾和磷酸二氢钠的缓冲液配制成100 mL溶液,存放于棕色瓶中,并置于冰箱备用。实验时,取50粒种子,沿种脊小心将种子分成两瓣,取有胚的一瓣放入EP试管中,滴入TTC溶液浸没种子,在室温(30℃)避光条件下放置4 h后观察染色结果。

2)种子发芽率测定。采用纸上发芽法测定种子的发芽率。将50粒试验种子均匀摆放在发芽盒(两层发芽纸)中,置于26℃的培养箱中,保持发芽盒的适宜湿度,每天记录发芽种子的数量,并据此计算发芽率。

3)生理生化指标测定。种子的生理生化指标包括电导率、MDA、SOD、POD、CAT。采用电导法测定电导率,采用硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)比色法^[23]测定MDA含量,采用氮蓝四唑(nitrotetrazolium blue chloride, NBT)光还原法测定SOD活性,采用愈创木酚法测定POD活性,采用分光光度计法^[24]测定CAT活性。

4)数据分析。本研究采用Excel 2003和SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 置留时间对种子生活力和发芽率的影响

种子的生活力和发芽率是衡量种子质量的关键指标,它们直接关系到种子的田间出苗率,并能可靠地反映种子活力的变化。图1展示了不同置留时间对玉米、红花、黑豆种子生活力和发芽率的影响,红花和黑豆种子在不同置留时间下的生活力和发芽率与对照组相比变化不大,整体呈现上升趋势,这表明适度的冻融置留时间可能对这两种种子的生活力和发芽率有促进作用。相比之下,玉米种子的生活力在置留时间变化下呈现小幅波动,而发芽率在置留超过24 h后有轻微下降趋势,但与对照组相比,总体变化不大,说明超过24 h的冻融置留时间可能对玉米种子的发芽率有一定抑制作用,但整体影响较小。

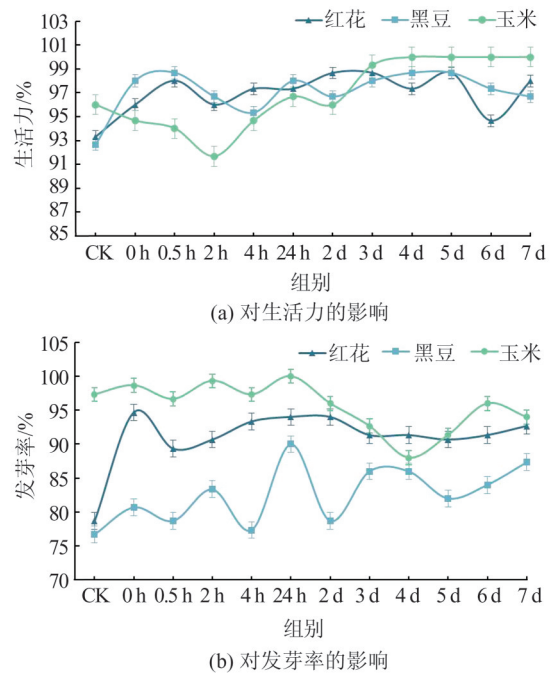


图1 不同置留时间对玉米、红花、黑豆种子生活力和发芽率的影响

Fig. 1 Effects of different retention times on the viability and germination rate of *Z. mays*, *C. tinctorius* and *G. max* seeds

2.2 置留时间对种子生理指标的影响

1)置留时间对玉米、红花、黑豆种子膜脂过氧化的影响。细胞膜的完整性对于调节物质进出细胞至关重要。若细胞膜完整性受损,会导致细胞膜通透性增强,降低种子的修复能力和速度,从而增加种子内电解质的渗出,导致电导率上升^[25]。图2(a)~图2(c)表明,红花种子的电导率在置留0 h~2 d时高于对照组,置留时间超过2 d后,电导率低于对照组,但整体差异不显著,表明冻融置留时间对红花种子细胞膜完整性的影响有限。黑豆种子在置留0 h~4 h时电导率高于对照组,之后差异不显著,说明超过4 h的置留时间可能有助于减轻液氮冷冻对黑豆种子的损伤。玉米种子的电导率随置留时间延长整体呈下降趋势,表明液氮冷冻和置留时间对玉米种子细胞膜通透性的影响较小。

MDA作为膜脂过氧化物的产物,是细胞膜系统中不饱和脂肪酸氧化的最终产物,具有细胞毒性,能够抑制细胞保护酶的活性^[26],降低抗氧化物含量,从而引起种子膜系统的损伤。由图2(d)~图2(f)可知,红花种子的MDA含量随置留时间的增加无显著变化,表明置留时间对红花种子细胞膜系统的影响不大。黑豆种子在置留时间为24 h时MDA含量急剧上升,但其他时间与对照组相比变化不大,表明

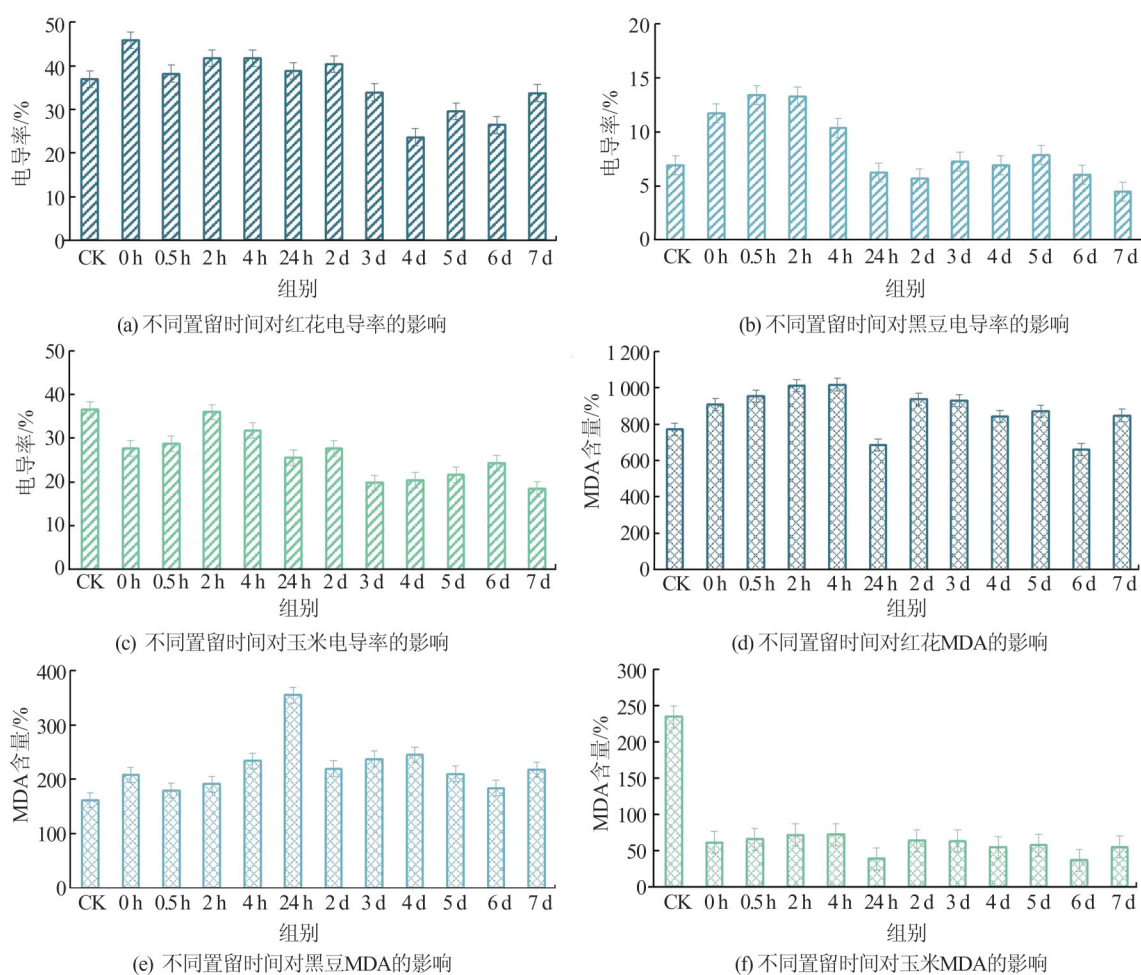


图2 不同置留时间对红花、黑豆、玉米种子膜脂过氧化的影响

Fig. 2 Effects of different retention times on membrane lipid peroxidation of *C. tinctorius*, *G. max*, and *Z. mays* seeds

置留时间对黑豆种子细胞膜完整性的影响有限,但在24 h置留时可能抑制细胞保护酶的活性。玉米种子的MDA含量在冻融后急剧下降,且置留时间对其MDA含量影响不大,说明超低温冻融对玉米种子细胞膜的损伤较小,细胞保护酶的活性保持稳定。

2)置留时间对玉米、红花、黑豆种子抗氧化保护系统的影响。SOD作为清除超氧自由基的关键酶,其活性对种子的抗氧化活力有显著影响。图3结果显示,红花、玉米和黑豆种子的SOD活性在不同置留时间下与对照组相比只有小幅变化,表明冻融置留时间对这3种种子的活力影响较小。

POD作为种子细胞内清除自由基的抗氧化酶,与种子的抗低温能力密切相关^[9]。由图3得知,红花种子在特定置留时间下POD活性低于对照组,而其他时间则高于对照组,表明置留时间对红花种子POD含量的影响较大。黑豆种子在初期置留时间下POD活性高于对照组,之后趋于平稳,说明一定的置留时间可能有助于缓解超低温冻融对黑豆种子的伤害。玉米种子的POD活性随置留时间增加呈

现先升高后下降然后再升高的趋势,表明置留时间的增加可能导致玉米种子抗氧化酶系统功能失调。

CAT作为与植物抗逆性相关的酶,不仅能保护生物膜,还能促进种子代谢,增加种子的抗逆性^[26]。图3显示,红花种子的CAT活性随冻融置留时间的增加变化不大,而黑豆和玉米种子的CAT活性则先提高后降低,表明冻融置留时间对红花种子的膜脂影响较小,而对黑豆和玉米种子的膜脂影响较大。

2.3 冻融次数对种子生活力和发芽率的影响

图4结果表明,冻融次数对玉米种子的生活力影响不大,发芽率随冻融次数增加先小幅下降后趋于稳定,表明反复冻融在一定程度上可能抑制玉米种子的发芽率,但抑制作用有限。红花种子的生活力随冻融次数增加呈现小幅下降后回升的趋势,发芽率有小幅波动,且整体上较对照组有小幅下降,表明多次反复冻融可能对红花种子的发芽率产生一定影响。黑豆种子的生活力和发芽率随冻融次数增加整体呈现上升趋势,表明冻融次数的增加可能对黑豆种子的生活力和发芽率有促进作用。

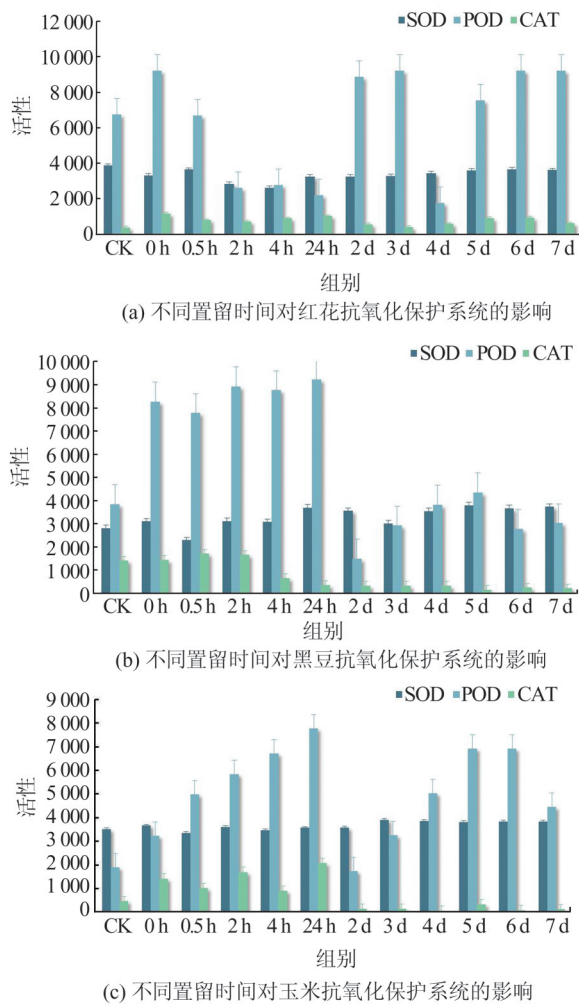


图3 不同置留时间对玉米、红花、黑豆种子抗氧化保护系统的影响

Fig. 3 Effects of different retention times on antioxidant protection system of *Z. mays*, *C. tinctorius* and *G. max* seeds

2.4 冻融次数对种子生理生化特性的影响

1)冻融次数对玉米、红花、黑豆种子膜脂过氧化的影响。图5(a)~图5(c)显示,红花种子的电导率随冻融次数增加变化不大,黑豆种子的电导率呈小幅上升趋势,而玉米种子的电导率则呈现下降趋势,表明冻融次数对这3种种子细胞膜完整性的影响有限,但红花和黑豆的细胞膜通透性随冻融次数的增加而增强,超低温冷冻可能降低玉米种子的电导率,且冻融次数增加可能使玉米种子的电导率达到一个稳定值。

图5(d)~图5(f)表明,红花种子的MDA含量随着冻融次数增加变化不大,表明冻融次数对红花种子细胞膜系统的影响有限。黑豆种子的MDA含量随冻融次数变化有不同程度的下降,表明冻融次数的增加可能降低黑豆种子的细胞膜受损程度。玉米种子的MDA含量随冻融次数增加先下降后回

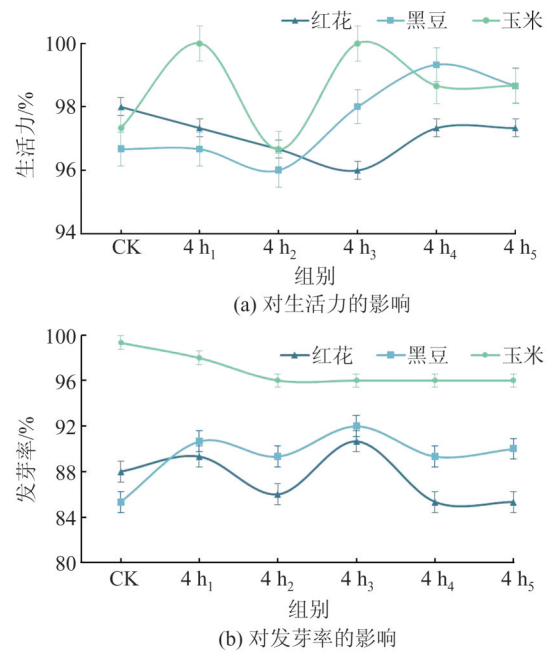


图4 不同冻融次数对玉米、红花、黑豆种子生活力和发芽率的影响

Fig. 4 Effects of different freeze-thaw times on the viability and germination rate of *Z. mays*, *C. tinctorius* and *G. max* seeds

升,表明随着冻融次数增加,玉米种子的细胞膜受损程度可能先减小后增加。

2)冻融次数对玉米、红花、黑豆种子抗氧化保护系统的影响。图6实验结果表明,红花和玉米种子的SOD活性在反复冻融4次后较对照组有明显下降,表明超过4次的反复冻融可能对这两种种子的抗氧化活力产生一定负面影响。黑豆种子的SOD活性整体变化不大,表明冻融次数对黑豆种子的抗氧化活力影响较小。

红花种子在特定冻融处理下POD活性上升,与对照组差异显著,而其他情况下差异不大,表明特定冻融处理对红花种子的代谢及抗逆性产生较大影响。黑豆种子的POD活性在初期冻融次数下有较大变化,之后趋于平稳,表明特定冻融处理可能对黑豆种子的代谢及抗逆性产生较大影响。玉米种子的POD活性随着冻融次数增加逐渐降低,表明冻融次数的增加可能导致玉米种子在逆境条件下的抗氧化酶系统功能失调。

红花种子的CAT酶活性随冻融次数增加先下降后上升,黑豆种子整体无明显变化,而玉米种子CAT酶活性呈上升趋势,表明红花种子的抗逆能力随冻融次数增加先增强后减弱,黑豆种子的抗逆能力无明显变化,玉米种子的抗逆能力逐渐增强。

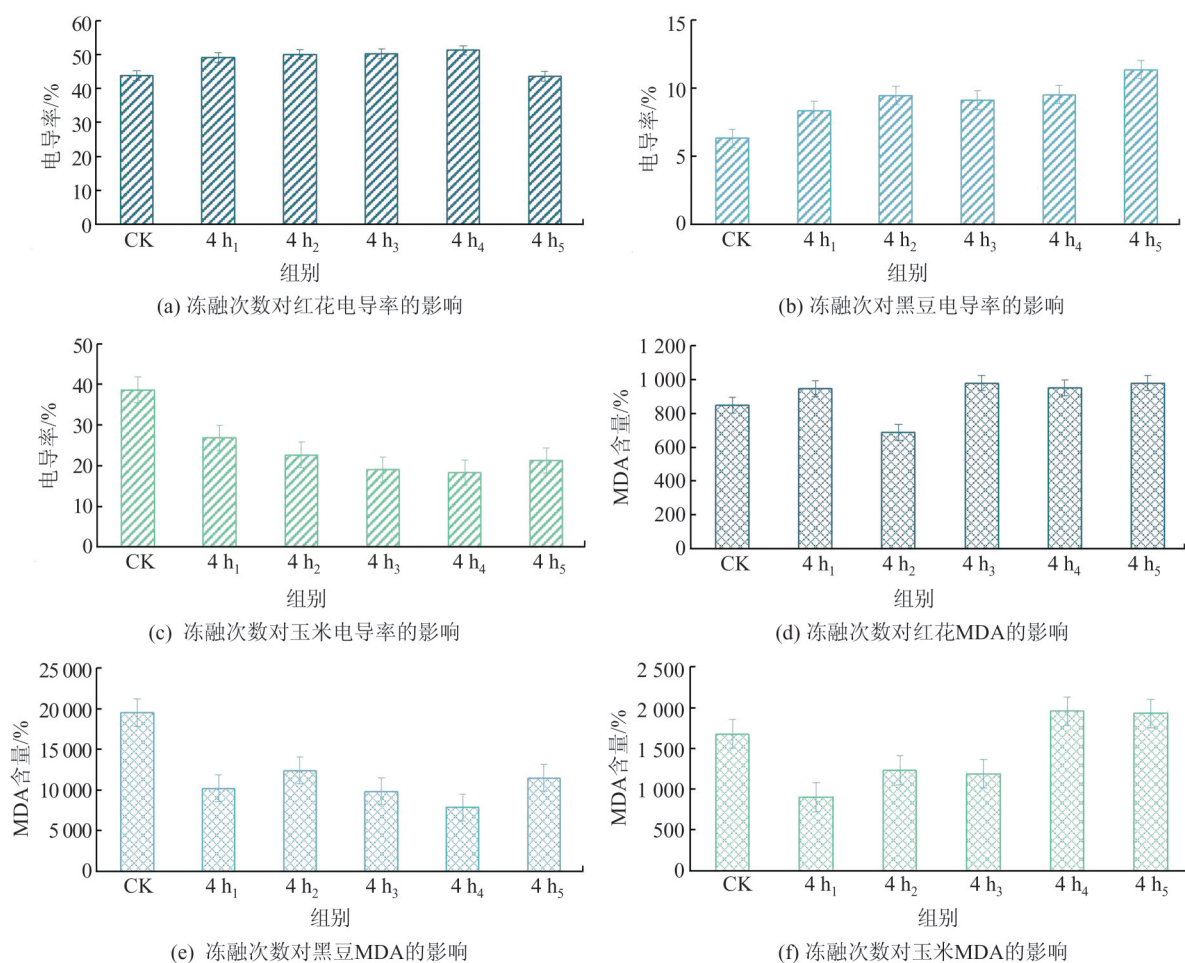


图5 不同冻融次数对玉米、红花、黑豆种子膜脂过氧化的影响

Fig. 5 Effects of different freeze-thaw times on membrane lipid peroxidation of *Z. mays*, *C. tinctorius* and *G. max* seeds

3 结论与讨论

实验表明,在超低温反复冻融过程中,冻融的置留时间和冻融次数对正常性药用植物种子的生活力和发芽率的影响不显著。特别是玉米种子,尽管其发芽率相较于对照组有所降低,但仍然保持在90%以上,这与文献[27]的研究结果一致,即液氮超低温贮藏对玉米种子活力的影响较小。玉米种子发芽率的轻微降低可能与种子的内在特性或其含水量有关,但具体原因仍需进一步研究。

在探讨不同置留时间对玉米、红花、黑豆种子生理生化特性的影响时,发现种子的POD和CAT活性变化显著,尤其是在0 h~2 d的置留时间内波动较大。置留2 d后,种子内的CAT趋于稳定,而POD活性则缓慢上升,接近对照组水平。这种变化可能是由于超低温冷冻胁迫影响了种子活性氧清除系统的能力,导致细胞内活性氧和自由基含量不均匀变化。随着置留时间的延长,由于超低温冷冻胁迫

的影响减弱,种子内部的酶系统可能逐渐恢复至平衡状态。

在逆境或衰老过程中,种子细胞内自由基代谢的平衡可能会被破坏,导致细胞膜系统损伤和细胞膜通透性增大,进而增加MDA含量和相对电导率。然而,本实验结果显示,随着置留时间和冻融次数的变化,种子的MDA含量和电导率并未受到显著影响。这表明在反复冻融过程中,置留时间和冻融次数不会对药用植物种子造成严重损害,这一发现与种子生活力和发芽率的检测结果一致。

综上,反复冻融的置留时间和冻融次数对正常性药用植物种子的影响较小,能够保持种子细胞的完整性,不改变其抗氧化保护系统,且种子的生活力和发芽率也几乎不受影响。初步判断液氮超低温反复冻融对正常性药用植物种子活力无显著影响,应用超低温保存技术对正常性药用植物种质资源库的种子进行批量入库保存是可行的。

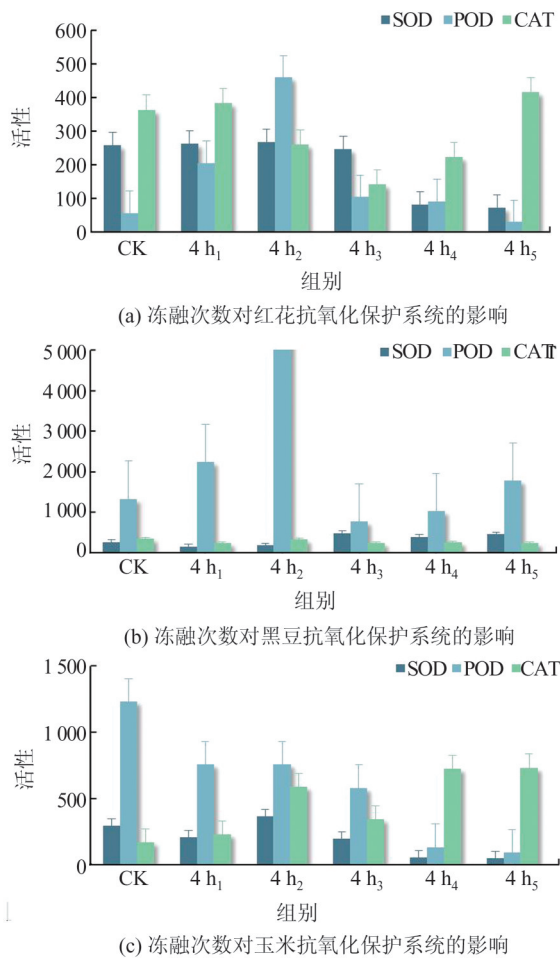


图6 冻融次数对玉米、红花、黑豆种子抗氧化保护系统的影响
Fig. 6 Effects of freeze-thaw times on antioxidant protection system of *Z. mays*, *C. tinctorius* and *G. max* seeds

参考文献

[1] 王哈, 雷秀娟, 宋娟, 等. 药用植物种质资源超低温保存及遗传变异特性研究进展[J]. 特产研究, 2015, 37(2): 70-73, 78.
Wang H, Lei X J, Song J, et al. Advances in study of medicinal plant germplasm cryopreservation and genetic variation[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 2015, 37(2): 70-73, 78.

[2] 陈虞超, 李晓琳, 赵玉洋, 等. 珍稀濒危药用植物资源离体保存研究进展[J]. 世界中医药, 2021, 16(7): 1018-1030.
Chen Y C, Li X L, Zhao Y Y, et al. Research progress on *in vitro* conservation of resources of rare and endangered medicinal plants [J]. World Chinese Medicine, 2021, 16(7): 1018-1030.

[3] 李伦政, 古丽娜尔·艾拜都拉, 杨瑞思, 等. 小滴玻璃化法超低温保存海岛棉 XH33 胚性细胞的研究[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(7): 1199-1205.
Li L Z, Gulinaer A, Yang R S, et al. Study on cryopreservation of XH33 embryogenic cells in *Gossypium*

barbadense by droplet vitrification[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2019, 27(7): 1199-1205.

[4] 赵丹琦, 宋江萍, 贾会霞, 等. 葱韭类蔬菜种质资源种子超低温保存技术研究[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(5): 1258-1268.
Zhao D Q, Song J P, Jia H X, et al. Study on cryopreservation method of *Allium* crop germplasm [J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(5): 1258-1268.

[5] 李翠, 陈东亮, 陈晓英, 等. 药用植物种质资源的超低温保存[J]. 中国现代中药, 2020, 22(6): 966-970.
Li C, Chen D L, Chen X Y, et al. Cryopreservation of medicinal plant germplasm resources [J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(6): 966-970.

[6] 宋碧清, 禹晓梅, 郑昀晔, 等. 烟草种子成熟过程抗氧化酶活性变化与种子活力的关系[J]. 分子植物育种, 2018, 16(10): 3349-3354.
Song B Q, Yu X M, Zheng Y Y, et al. The relationship between antioxidant enzyme activity and seed vigor during tobacco seed maturation [J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(10): 3349-3354.

[7] 杨树林, 杨太新, 刘晓清. 祁沙参种子质量与生理指标的相关关系研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(4): 965-967.
Yang S L, Yang T X, Liu X Q. Study on the correlation between seed quality and physiological indexes of *Glehnia littoralis* [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2021, 32(4): 965-967.

[8] 贺杰, 王伟, 胡海燕, 等. 小麦种子活力与其保护酶活性关系的研究[J]. 天津农业科学, 2012, 18(2): 17-19.
He J, Wang W, Hu H Y, et al. Wheat seed vigor and relationship with protection enzyme activity [J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2012, 18(2): 17-19.

[9] 刘艳萍, 朱中原, 刘涛阳. 超低温保存对胡杨种子活力及生理指标的影响研究[J]. 南方农业, 2020, 14(14): 133-136, 139.
Liu Y P, Zhu Z Y, Liu T Y. Effects of cryopreservation on seed vigor and physiological indexes of *Populus euphratica* [J]. South China Agriculture, 2020, 14(14): 133-136, 139.

[10] 曹柏. 超低温保存对玉蝉花种子生理特性影响及再生体系建立[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2016.
Cao B. Effect of cryopreservation on physiological characteristics of *Iris ensata* seeds and establishment of regeneration system [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2016.

[11] 刘国贞, 吴福海, 宋华东, 等. 种子劣变机理的研究进展[J]. 山东省农业管理干部学院学报, 2007, 24(1): 159-160.

- Liu G Z, Wu F H, Song H D, *et al.* Research progress of seed deterioration mechanism [J]. The Journal of Shandong Agriculture and Engineering University, 2007, 24(1): 159-160.
- [12] 刘亚栋, 张长峰. SA 浸种对盐胁迫下小麦种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 生命科学研究, 2017, 21(3): 244-250.
- Liu Y D, Zhang C F. Effects of seed pre-soaking with salicylic acid on seed germination and seedling growth of wheat under salt stress [J]. Life Science Research, 2017, 21(3): 244-250.
- [13] 刘贺, 李焰焰, 聂传朋, 等. 水对盐胁迫下种子引发的缓解效应[J]. 武夷学院学报, 2024, 43(3): 9-13.
- Liu H, Li Y Y, Nie C P, *et al.* Mitigation effect of water on seed initiation under salt stress [J]. Journal of Wuyi University, 2024, 43(3): 9-13.
- [14] 侯小进, 张梦, 刘克帅, 等. 低温处理对桃种子贮藏物质及抗氧化酶活性的影响[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2024, 52(1): 9-15.
- Hou X J, Zhang M, Liu K S, *et al.* Effect of low temperature treatment on storage substances and antioxidant enzyme activity of peach seeds[J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition), 2024, 52(1): 9-15.
- [15] 范云鹏, 李十中. 药用植物红花及其生物活性成分红花黄酮的提纯[J]. 中国医学生物技术应用, 2002(3): 73-76.
- Fan Y P, Li S Z. Purification of *Carthamus tinctorius* and its bioactive component *Carthamus tinctorius* [J]. The Chinese Academic Medical Magazine of Organisms, 2002(3): 73-76.
- [16] 李丹丹. 红花 ω -6 脂肪酸脱氢酶基因克隆及调控机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- Li D D. Cloning and regulation mechanism of ω -6 fatty acid desaturase genes in *Carthamus tinctorius* L. [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2019.
- [17] 王婷婷. 玉米种子超低温贮藏活力变化及适宜含水量的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
- Wang T T. Study on the changes of vigor and optimum moisture content of maize seed stored at ultra-low temperature [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2015.
- [18] 玉米的六大神奇功效[J]. 科学大观园, 2016(19): 17.
- Six amazing benefits of corn [J]. Grand Garden of Science, 2016(19): 17.
- [19] Ganesan K, Xu B J. A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans [J]. Nutrients, 2017, 9(5): 455.
- [20] Sato D, Kusunoki M, Seino N, *et al.* Black soybean extract reduces fatty acid contents in subcutaneous, but not in visceral adipose triglyceride in high-fat fed rats [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2015, 66(5): 539-545.
- [21] Chen Z Q, Wang C, Pan Y X, *et al.* Hypoglycemic and hypolipidemic effects of anthocyanins extract from black soybean seed coat in high fat diet and streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Food & Function, 2018, 9(1): 426-439.
- [22] 冯晓敏, 范国华, 高翔, 等. 不同品种黑豆营养品质及抗氧化能力的研究[J/OL]. 中国粮油学报, 2024: 1-21 [2024-11-27]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000954>.
- Feng X M, Fan G H, Gao X, *et al.* Research on nutritional quality and antioxidant capacity of different varieties of black beans[J/OL]. Journal of the Chinese Cereals and Oils, 2024: 1-21 [2024-11-27]. <https://doi.org/10.20048/j.cnki.issn.1003-0174.000954>.
- [23] 张志良, 瞿伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- Zhang Z L, Qu W J, Li X F. Experimental guide to plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2008.
- [24] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- Wang X K. Principles and techniques of plant physiology and biochemistry experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [25] 马丽, 郝文芳, 刘德芳, 等. 水杨酸对低温胁迫种子萌发及细胞膜稳定性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(4): 183-188.
- Ma L, Hao W F, Liu D F, *et al.* Effects of SA on the germination of seeds and the stability of cell membrane under cold stress[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2010, 38(4): 183-188.
- [26] 张晓宁, 张焯, 肖玉菲, 等. 含水量对超低温保存后马尾松种子生理生化特性的影响[J]. 种子, 2020, 39(8): 48-51.
- Zhang X N, Zhang Y, Xiao Y F, *et al.* Effects of water content on physiological and biochemical characteristics of *Pinus massoniana* seeds after cryopreservation [J]. Seed, 2020, 39(8): 48-51.
- [27] 王婷婷, 杨建宇, 张文明, 等. 液氮超低温贮藏对玉米种子活力的影响[J]. 种子, 2014, 33(12): 30-32, 36.
- Wang T T, Yang J Y, Zhang W M, *et al.* Influence on vigor of maize seeds after liquid nitrogen cryopreservation[J]. Seed, 2014, 33(12): 30-32, 36.

□

(编辑:肖展春 高华)