

玄参种子质量分级标准的研究*

张 雪^{1, 2}, 陈大霞^{1, 3, 4}, 赵 楠¹, 李隆云^{1, 3, 4**}

(1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 2. 重庆医药高等专科学校, 重庆 401331; 3. 重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心 重庆 400065; 4. 中国中医科学院中药资源中心重庆分中心 重庆 400065)

摘 要:目的 制定玄参种子的质量分级标准。方法 对29个不同产地的玄参种子进行种子形态特征、千粒重、净度、发芽率、发芽势、含水量、生活力等的测定,通过SPSS分析软件对以上数据进行相关性分析、主成分分析及聚类分析,并结合生产实际和可操作性,制定玄参种子的质量分级标准。结果 I级玄参种子发芽率 $\geq 80.0\%$,千粒重 $\geq 0.170\text{ g}$,净度 $\geq 98.0\%$,II级玄参种子发芽率 $\geq 70.0\%$,千粒重 $\geq 0.150\text{ g}$,净度 $\geq 95.0\%$,III级玄参种子发芽率 $\geq 60.0\%$,千粒重 $\geq 0.130\text{ g}$,净度 $\geq 92.0\%$ 。结论 发芽率、净度、千粒重是玄参种子质量分级标准的重要指标。此方法制定的质量分级标准科学、可行,可作为玄参种子的质量控制标准。

关键词:玄参 种子 质量分级标准

doi: 10.11842/wst.20180103004 中图分类号: R282.5 文献标识码: A

玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 别名黑参、元参、浙玄参,为玄参科多年生草本植物。玄参具有清热凉血、养阴生津、泻火解毒的功效^[1]。玄参的繁殖方法主要有分株、种子、扦插等,但是,玄参生产上主要采用子芽(也叫根芽、芽头)繁殖方式。而对玄参种子的研究主要是发芽条件及检验规程等方面^[2-3],玄参种子的质量分级标准的研究还未见报道。目前,绝大部分中药材种子还没有相应的种子检验规程和质量标准,无法对市场上的种子的质量进行检验,造成了中药材种子市场混乱、种子质量良莠不齐等问题,亟待制定规范化的种子质量分级标准。因此,开展种子质量检验研究,制定种子质量标准和检验规程,是国家推进中药材规范化种植工作的一项中药任务。本研究对29个玄参主产地的玄参种子进行了净度、千粒重、发芽率、发芽势、含水量、生活力等6个种子质量分级指标的测定,初步制定了玄参种子质量分级标准。

为规范玄参药材质量提供了有力的保障。

1 材料

本实验玄参种子采自重庆,湖北,四川等地,所采的种子经重庆市中药研究院李隆云研究员鉴定为玄参种子。种子具体产地见表1。

2 方法

2.1 种子性状测定

将29个不同产地玄参种子自然阴干,充分震荡,种子自然脱落,过18目筛以便除去筛上的干燥果皮,再过60目筛除去筛下的尘土,手工随机数取若干种子作为种子质量分级的样品。随机选取上述不同产地玄参种子100粒,设3个重复,共300粒。在显微镜下逐粒观察并记录玄参种子的形态特征,种子外观性状指标主要包括:形状、大小(用种子长、宽、厚表示)、颜

收稿日期:2018-01-03

修回日期:2018-05-10

* 国家农业农村部国家中药材产业技术体系资金资助(CARS-21),负责人:李隆云;重庆市卫生健康委员会、重庆市科学技术委员会联合资助中医药科研项目(ZY201802053)渝产山银花对食用鸡生理生化指标和非特异性免疫影响机理研究,负责人:张雪;重庆市卫生健康委员会“十三五”市级中医药重点学科(渝中医[2018]43号):《中药药剂学》建设项目,负责人:朱照静。

** 通讯作者:李隆云,研究员,主要研究方向:从事中药材栽培技术和品种选育研究。

表1 玄参种子分级实验材料

编号	采集地点	编号	采集地点
1	重庆南川大有镇水源村	16	湖北巴东县绿葱坡镇祁家坪村
2	重庆南川头渡镇玉台村	17	湖北巴东县绿葱坡镇冯家湾村
3	重庆南川头渡镇前星村	18	湖北巴东县绿葱坡镇肖家坪村
4	重庆南川德隆乡兴隆村	19	湖北五峰县湾潭镇湾潭乡茅庄村
5	重庆南川古花镇凤门村	20	湖北鹤峰县走马镇走马坪村
6	重庆南川马嘴三线村	21	湖南怀化溆浦县龙庄湾乡龙庄湾村
7	重庆南川头渡镇玉台村	22	贵州道真阳溪镇永红村
8	重庆酉阳县楠木乡	23	贵州道真阳溪镇龙台村
9	重庆酉阳县涂市乡	24	浙江省金华磐安县大盘镇后塘村
10	重庆酉阳县腹地乡上腹地村	25	浙江磐安县大盘镇学田村
11	重庆武隆县仙女山镇杨家坝	26	浙江磐安县仁川镇黄余田村
12	四川绵阳北川县片口乡民新村	27	浙江磐安县窈川镇
13	湖北恩施利川市团堡镇兴隆坪村	28	浙江磐安县新渥镇
14	湖北恩施建始县龙坪乡龙潭村	29	河南南阳桐柏县毛集镇
15	湖北巴东县大枝坪镇耀英坪村		

色、表皮构造等。

2.2 净度分析

净度分析试验样品不少于2500粒种子^[4],确定玄参种子净度分析试验的质量为0.5 g。采用“四分法”取试验样品,在净度分析台上将试样分离成干净种子、其他植物种子和一般杂质3种成分。将分离后的各成分分别称重,精确至0.01 g,计算净种子的百分率,重复3次。千粒重、发芽率、发芽势、含水量及生活力测定均使用净种子。

2.3 千粒重测定

采用千粒法及四分法取样,将干净种子分成4份,从每份中随机取样250粒,共1000粒,3次重复,用0.0001电子天平称重,称重后计算各组平均值。

2.4 发芽率及发芽势测定

随机选取上述不同产地玄参净种子300粒,设3个重复,每个重复100粒,将种子摆放在铺有三层滤纸的培养皿中,加盖,放入光照培养箱中,于25℃条件下进行培养,每天定时检查并给培养皿中浇水,保持滤纸湿润。萌发7天统计发芽数并计算发芽势,14天统计最终发芽率。

发芽率、发芽势计算公式如下^[5]:

$$\text{发芽率}(\%) = \frac{\text{发芽总粒数}}{\text{试验总粒数}} \times 100\%$$

$$\text{发芽势}(\%) = \frac{\text{规定天数内发芽种子数}}{\text{试验种子数}} \times 100\%$$

2.5 生活力测定

采用电导率法测定。随机取29个不同产地玄参净种子0.2 g,放入20 mL无离子水中,均匀搅拌,在20~30℃下浸泡24 h,设3次重复。以蒸馏水为对照,用电导率测定对照和种子浸出液的电导率,样品电导率减去对照电导率,得出式样的值。计算样品电导率的值:

$$\text{电导率} = (\text{样品1的值}/\text{样品1的种子质量} + \text{样品2的值}/\text{样品2的种子质量} + \text{样品3的值}/\text{样品3的种子质量})/3$$

2.6 含水量测定

采用105℃恒温烘干法。设3个重复,每个重复4~5 g。烘干过程中,每隔1 h取出迅速放入干燥器中冷却至室温称重。直到前后2次重量不超过0.01 g为止,以最后一次重量作为烘干后的重量,计算种子水分百分率。

2.7 种子分级标准制定

使用SPSS12.0统计分析软件,对净度、千粒重、发芽率、发芽势、生活力、含水量数据进行相关分析后,结合生产实际和可操作性,确定玄参种子质量分级的指标,将指标标准化后,使用k均值分类法对观测量进行快速样本聚类,得出玄参种子质量分级标准。

2.8 玄参种子等级发芽试验

2.8.1 试验地概况

试验地选在重庆市武隆县仙女山镇荆竹村杨家坝玄参种植基地。位于东经107°41′、北纬29°25′,海

拔1300 m,属亚热带湿润季风气候,气候温和,年平均气温17.9℃,最低月平均气温6.6℃,最高月平均气温27.5℃。供试土壤为沙壤土,土层深厚、疏松肥沃、排水良好。2007年至2009年末栽培过玄参,前茬作物为玉米。试验地土壤pH 5.29,其基本理化性质为:有机质量为30.21 g/kg,全氮量为2.21 g/kg,全磷量为0.15 g/kg,全钾量为13.77 g/kg,速效氮量为117.3 mg/kg,速效磷量为5.37 mg/kg,速效钾量为2.19 mg/g。

2.8.2 试验材料

试验所用玄参种子为已分好等级的玄参种子,每个产地设三个重复,每个重复50粒。

2.8.3 试验方法

栽培前将地整平耕细,整成长1 m,高10 cm,宽1 m的小厢,为了利于排水和管理,四周开好宽20 cm的排水沟。厢面上均匀撒种,一厢作为一个重复,撒种后覆一层细土,浇水保湿保温,促进发芽生长。

2.8.4 采样方法

待幼苗长有6~8片叶子时,统计不同等级玄参种子的成活情况,计算田间出苗率,每个试验小区随机选20株作为观测植株,测量其株高、主茎茎粗、植株鲜重(烘干得到其植株干重,计算其壮苗指数,株高用直尺测量,精确到0.1 cm,茎粗用游标卡尺测量,精确到0.01 mm。用SPSS统计软件对生长指标进行差异显著性分析。

$$\text{保苗率} = \frac{\text{总株数} - \text{出苗株数}}{\text{总株数}} \times 100\%$$

$$\text{壮苗指数} = \frac{\text{茎粗(cm)}}{\text{株高(cm)}} \times \text{全株干重(mg)}, \text{其中全株干重(mg) = 叶片干重(mg) + 主茎干重(mg)}$$

株干重(mg) = 叶片干重(mg) + 主茎干重(mg)

3 结果与分析

3.1 种子真实性鉴定

玄参种子呈不规则椭圆形,长0.76~0.98 mm,宽0.38~0.54 mm,厚0.28~0.43 mm,黑褐色,在显微镜下观察发现种皮表面呈网状型并有凹陷,质脆坚硬。

3.2 不同产地玄参种子质量检测结果分析

29个产地玄参种子的净度、千粒重、发芽率、发芽势、生活力、含水量等指标质量检测结果见表2。从表2可以看出,不同产地玄参种子各个质量检测指标的变化规律与产地基本没有相关性。不同地方玄参种子的净度均在90%以上,玄参种子样品中的杂质多为

表2 玄参种子质量检测结果

产地编号	净度/%	千粒重/g	发芽势/%	发芽率/%	生活力	含水量/%
1	92.1 c	0.138 b	53.6 b	63.3 b	0.869 a	8.97 a
2	95.2 ab	0.152 b	56.3 ab	74.3 ab	0.741 a	8.66 a
3	96.2 ab	0.141 b	54.7 b	65.3 ab	0.654 b	9.07 a
4	91.3 c	0.155 b	56.6 ab	67.3 ab	0.522 b	8.39 a
5	93.4 bc	0.173 ab	64.6 a	71.7 ab	0.657 b	9.58 a
6	98.2 a	0.188 a	56.4 ab	68.7 ab	0.634 b	9.64 a
7	92.1 c	0.194 a	61.5 ab	72.0 ab	0.528 b	10.15 a
8	93.4 bc	0.178 ab	71.3 a	67.0 ab	0.625 b	8.25 a
9	95.2 ab	0.165 ab	41.5 c	72.7 ab	0.687 ab	9.67 a
10	93.2 bc	0.166 ab	45.9 b	73.7 ab	0.713 ab	10.24 a
11	93.1 bc	0.157 b	49.7 b	68.3 ab	0.728 ab	9.65 a
12	94.3 abc	0.145 b	52.7 b	75.3 ab	0.657 b	9.37 a
13	96.7 ab	0.141 b	51.8 b	76.3 ab	0.697 ab	10.08 a
14	95.8 ab	0.189 a	66.5 a	80.7 a	0.638 b	9.68 a
15	92.1 c	0.167 ab	67.9 a	69.3 ab	0.598 b	9.07 a
16	93.1 bc	0.158 b	67.2 a	83.0 a	0.457 c	9.98 a
17	99.7 a	0.188 a	70.8 a	86.7 a	0.428 c	10.15 a
18	93.7 bc	0.196 a	49.8 b	66.7 ab	0.665 b	10.65 a
19	92.1 c	0.140 b	49.8 b	57.0 b	0.762 a	8.97 a
20	94.7 abc	0.154 b	50.7 b	58.0 b	0.834 a	11.05 a
21	93.2 bc	0.151 b	51.8 b	60.7 b	0.773 a	9.28 a
22	96.1 ab	0.194 a	50.4 b	61.0 b	0.758 a	9.96 a
23	95.4 ab	0.178 ab	52.7 b	75.4 ab	0.867 a	10.04 a
24	96.7 ab	0.141 b	59.7 ab	62.0 b	0.886 a	8.99 a
25	96.8 ab	0.188 a	58.4 ab	74.0 ab	0.579 b	9.67 a
26	95.7 ab	0.185 a	59.7 ab	63.3 b	0.741 a	10.15 a
27	92.1 c	0.173 ab	64.8 a	81.7 a	0.498 c	9.64 a
28	93.1 bc	0.175 ab	64.9 a	78.4 a	0.432 c	9.91 a
29	95.7 ab	0.185 a	65.1 a	75.4 ab	0.885 a	9.07 a

注:同一列不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$

残存果夹或短小花枝,一般不掺和其他植物种子及重型混杂物,废种子含量的高低直接决定种子净度。不同地方玄参种子的千粒重范围为0.138~0.196 g,差异显著,平均值为0.167 g,变异系数为11.4%。不同地方玄参种子发芽率差异明显,发芽率的范围为57.0%~86.7%,除19号、20号以外,其他产地发芽率均在60%以上,17号最大,达到了86.7%。各产地玄参种子发芽率差异显著,平均值为70.7%,变异系数为10.8%。不同地方玄参种子发芽势差异明显,发芽势的范围为41.5%~70.8%,大部分产地玄参种子发芽势在50%以上,同样是17号种子的发芽势最大,达到了70.8%。发芽势与发芽率的变化趋势相似,发芽势高说明种子

的发芽速度快、发芽整齐,表示种子生活力强。电导率与发芽率基本呈反比。因种子在水中浸泡后,体内电解质会渗透出细胞膜,细胞膜的完整性越低,则进入浸泡液的电解质越多,浸泡液的电导率就越高,对应的种子活力越低。不同产地玄参种子生活力的范围为0.428~0.886,差异显著,平均值为0.67,变异系数为19.7%。17号电导率最小,仅为0.428 $\mu\text{S}/(\text{cm}^2\cdot\text{g})$,表明种子的活力最高。29份玄参种子含水量差异不显著,变化范围为8.25~11.05%,平均值为9.59%,变异系数仅为6.7%。

3.3 玄参种子质量指标间的相关分析

玄参种子各质量指标间的相关性分析结果见表3。其中发芽率、发芽势、净度、生活力及千粒重之间均呈显著相关,含水量与其他指标间没有相关性,说明在安全含水量范围内,玄参种子品质与含水量不相关。净度与发芽率、发芽势的相关系数分别为0.628和0.513,说明净度在某种程度上能够反映玄参种子内在品质。结合相关性分析结果以及生产实际和可操作性,本研究以发芽率、净度、千粒重作为玄参种子质量分级的重要指标。

3.4 玄参种子质量分级标准的初步制定

本研究采用快速样本聚类分析的数学方法进行分级, k 均值分类法执行快速样本聚类命令,使用欧氏距离公式来确定不同级别间的距离,距离越小则相似程度越大^[6]。

以玄参种子千粒重,发芽率,净度3项指标的标准化值进行 k 类中心聚类分析,结合生产实际和可操作性,初步制订了玄参种子质量分级标准见表4。分级方法采用最低定级原则,即任何一项不符合规定标准都不能定为相应等级的合格子芽。Ⅰ级、Ⅱ级和Ⅲ级以外的种子为不合格种子。

3.5 不同等级种子对玄参幼苗生长的影响

本研究对分级后种子的幼苗进行了相关指标的测定,不同等级的玄参种子田间试验结果见表5。从表5明显看出Ⅰ级种子在田间出苗率,幼苗生长指标,壮苗指数明显高于Ⅱ级和Ⅲ级种子幼苗,证明了本研究对玄参分级标准有一定的参考价值。

4 讨论

在分级的各项指标中,发芽率最重要,因为发芽率的大小决定了种子的田间利用价值,根据种子的发

表3 玄参种子质量指标间的相关分析

相关系数	发芽率	发芽势	净度	生活力	千粒重	含水量
发芽率	1	0.833	0.628	0.579	0.491	0.108
发芽势	0.833	1	0.513	0.725	0.607	0.127
净度	0.628	0.513	1	0.612	0.633	0.138
生活力	0.579	0.725	0.612	1	0.657	0.051
千粒重	0.491	0.607	0.633	0.657	1	0.162
含水量	0.108	0.127	0.138	0.051	0.162	1

表4 玄参种子质量标准

等级	发芽率/%	千粒重/g	净度/%
Ⅰ	≥ 80.0	≥ 0.170	≥ 98.0
Ⅱ	≥ 70.0	≥ 0.150	≥ 95.0
Ⅲ	≥ 60.0	≥ 0.130	≥ 92.0

表5 不同等级玄参种子的壮苗效果

等级	株高/cm	茎粗/mm	植株鲜重/g	植株干重/g	出苗率/%	壮苗指数
Ⅰ级	2.4	1.40	0.184	0.047	79.0 a	0.0027 a
	2.8	1.43	0.190	0.051	86.0 a	0.0026 a
	3.1	1.47	0.207	0.049	77.0 a	0.0023 a
	2.9	1.46	0.218	0.058	85.0 a	0.0029 a
	3.4	1.39	0.223	0.056	80.0 a	0.0023 a
Ⅱ级	2.5	1.08	0.167	0.027	65.0 ab	0.0012 ab
	2.1	1.25	0.136	0.025	60.0 ab	0.0015 ab
	2.3	1.13	0.134	0.023	73.0 a	0.0011 ab
	3.6	1.40	0.184	0.025	58.0 b	0.0010 ab
	2.6	1.26	0.144	0.028	62.0 ab	0.0014 ab
Ⅲ级	1.9	0.97	0.136	0.017	40.0 c	0.0009 b
	2.3	1.01	0.134	0.018	55.0 b	0.0008 b
	1.8	1.04	0.063	0.006	50.0 c	0.0003 b
	2.4	1.05	0.078	0.010	34.0 c	0.0004 b
	2.3	0.84	0.089	0.017	45.0 c	0.0006 b

芽率计算田间实际播种量^[7],作为分级的第一指标;千粒重可反映种子大小,饱满程度和种子成熟度等,玄参种子千粒重受到产地、采收期等客观因素的影响,采收时间过早或过晚,均会影响玄参种子成熟度。种子成熟度对其萌发率及产量均有直接影响,刘心民^[8]研究表明玄参种子的萌发率与成熟度密切相关。因此,本研究将千粒重作为分级重要的参考指标;净度与发芽率、发芽势的相关系数都较高,净度的高低不是种子生物学特性所决定的,行政和经济手段是决定种子净度高低的的主要因素,与种子的发芽能力无关。但净度是种子收购、贮藏中的主要指标,发芽率实验也是在净度的基础上进行的,所以在种子质量评定时

需要权衡考虑^[9]。生活力虽能反映种子发芽和出苗期间活性强度,但实际生产中可操作性差;种子的含水量与发芽率、发芽势、净度、生活力及千粒重之间没有相关性,说明在安全含水量范围内,玄参种子品质与含水量不相关。综合实际生产和各指标的相关性分析,把发芽率、千粒重、净度作为玄参种子质量的重要指标。

目前,包括玄参在内的绝大部分中药材种子缺乏

相应的检验标准和质量标准,无法对市场上的中药材种子质量进行检验和有效控制。这使得中药材种子检验工作无标准可依,种子质量控制受到极大的制约。因此,开展中药材种子检验规程和质量标准的研究是我国中药材规范化生产急需解决的重大问题^[10]。本研究提供的玄参种子分级标准是在试验研究的基础上提出的,是玄参生产质量管理的重要组成部分。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2010, 108-109.
- 2 王珏理, 赵姗姗, 王国凯, 等. 玄参种子检验规程研究. 现代中药研究与实践 2011, 25(4): 18-20.
- 3 薛媛菲, 梁宗锁, 蒋再民, 等. 玄参种子的吸水特性及发芽条件研究. 西北农业学报, 2008, 17(2): 151-154.
- 4 中华人民共和国国家标准. 农作物种子检验规程(GB/T3543-1995). 北京: 中国标准出版社, 1995.
- 5 颜启传. 种子检验原理和技术. 杭州: 浙江大学出版社, 2001.
- 6 卢纹岱. SPSS for Windows 统计方法(第三版). 北京: 电子工业出版社, 2006.
- 7 张雪, 李隆云, 陈大霞, 等. 川续断种子质量分级标准的研究. 中国中药杂志, 2012, 1(37): 37-40.
- 8 刘心民. 牡丹种子穴盘育苗试验研究. 北京: 北京林业大学, 2006.
- 9 孙群, 杨力钢, 丁自勉, 等. 乌拉尔甘草种子质量分级标准的研究. 中国中药杂志, 2008, 33(10): 1126-1129.
- 10 魏建和, 陈士林, 程惠珍, 等. 中药材种子种苗标准化工程. 世界科学技术-中医药现代化, 2005, 7(6): 104.

Research on Quality Classification Standard of *Scrophularia Ningpoensis* Hemsl. Seeds

Zhang Xue^{1,2}, Chen Daxia^{1,3,4}, Zhao Nan¹, Li Longyun^{1,3,4}

(1.Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 2.Chongqing Medical and Pharmaceutical college, Chongqing 401331, China; 3.Chongqing Engineering Research Center for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China; 4.Chongqing Sub-center of National Resource Center for Chinese Materia Medica, Chongqing 400065, China)

Abstract: Objective To establish the quality classification criteria of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. seeds. Methods Twenty-nine batches of *S. ningpoensis* seeds from different provenances were selected. The seed germination rate, germination potential, seed purity, seed viability, 1000-seed weight and moisture content were determined and analyzed through SPSS software. Seed germination rate, seed purity and 1000-seed weight were selected as the main index for classification. The seed quality grading of *S. ningpoensis* was set as three grades. The seed quality of each grade should meet following requirements. Results For the first grade seeds, seed germination rate $\geq 80.0\%$, 1000-seed weight $\geq 0.170\text{g}$, seed purity $\geq 98\%$. For the second grade seeds, seed germination rate $\geq 70.0\%$, 1000-seed weight $\geq 0.150\text{g}$, seed purity $\geq 95\%$. For the third grade seeds, seed germination rate $\geq 60.0\%$, 1000-seed weight $\geq 0.130\text{g}$, seed purity $\geq 92\%$. Conclusion Seed germination rate, seed purity, and 1000-seed weight are significant indicators for quality grading criteria. The quality classification criteria established by this method is scientific and practicable, which can be used as the quality control standard for *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. seeds.

Keywords: *Scrophularia ningpoensis* Hemsl, seed, quality, classification, criteria

(责任编辑: 周阿剑, 责任译审: 邹建华)