

基地的龙胆样品相似度非常接近,说明共有模式可以包容其他产地的同类样品;同属的 1 号样品(三花龙胆)、8 号样品(坚龙胆)与 19 号、20 号样品(小秦艽)同样可以达到依次区分;与不同科的植物草本威灵仙(27 号、28 号)、桃儿七(29 号、30 号)区别更大。这种相似度依次区分的结果与理论上由科属种界定的亲缘关系规律相一致。桃儿七样品有剧毒,曾经发生过将其误投为龙胆而引起的中毒事件^[7],因此共有模式将其区分,完全可以控制龙胆药材的质量。从表 3 上还可以看到产于同一 GAP 生产基地的栽培品的相似度还略有差别,这是由于生长年限、采收季节、土壤环境等因素的影响,龙胆药材所含的有效成分的种类和量存在一定的波动,但总体来看 I 类品种的相似度一般在 0.9~1.0。

3.5 指认了共有模式中的马钱苷、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和獐牙菜苷 4 个化合物,它们都是裂环环烯

醚萜苷类化合物,这类成分是龙胆药材的药效成分,也是其苦味的来源。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 2005 一部.
- [2] 马立祥,肖玮,王臣. 不同产地三花龙胆地下器官龙胆苦苷的测定[J]. 中草药, 2006, 37(4): 607-608
- [3] 江蔚新,沈志滨,薛宝玉. 三花龙胆和东北龙胆中龙胆苦苷的积累规律研究[J]. 中草药, 2004, 35(5): 521-522
- [4] 江蔚新,钦浩,何文顺. 龙胆药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2008, 39(10): 1563-1565
- [5] 魏岚,陈晓辉,毕开顺. RP-HPLC 法测定龙胆中的当药苦苷和当药苷[J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 36(6): 925-927
- [6] Jiang R W, Wong K L, Chan Y M, et al. Isolation of iridoid and secoiridoid glycosides and comparative study on *Radix Gentianae* and related adulterants by HPLC analysis [J]. *Phytochemistry* 2005, 66: 2674-2680
- [7] 刘宝玲,张南平,王利生,等. 龙胆与假龙胆的鉴别[J]. 中国药事, 1998, 12(2): 103

丹参种子的超干贮藏研究

成清琴,王磊,陈娟,慕小倩*

(西北农林科技大学生命学院,陕西杨凌 712100)

摘要:目的 确定丹参种子的最适超干方法和不同贮藏时间内的最适超干水分,并探索耐藏机制。方法 用硅胶常温干燥法和恒温鼓风机 50 °C 干燥法将丹参种子干燥到不同的含水量后进行贮藏,通过测定种子发芽率、发芽势、活力指数等指标确定最适超干方法及超干水分;通过测定可溶性糖的量和 MDA 量来探索种子耐藏性。结果 采用硅胶脱水比用烘箱更安全;超干丹参种子在贮藏初期耐藏性优势明显,随着贮藏时间的延长,超干种子相对于对照的耐藏性优势下降;常温密封贮藏丹参种子的最适含水量约为 7.5%;种子耐藏性与种子中可溶性糖量密切相关。结论 丹参种子可以采用超干贮藏方法来保存种质资源。

关键词: 丹参种子;超干贮藏;最适含水量

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)05-0825-05

Studies on ultra dry storage of *Salvia miltiorrhiza* seeds

CHENG Qing qin, WANG Lei, CHEN Juan, MU Xiao-qian

(College of Life Science, Northwest University of A & F, Yangling 712100, China)

Abstract: Objective To study the optimum ultra dry method and moisture at different storage time for *Salvia miltiorrhiza* seeds and find the principle of storability. **Methods** *S. miltiorrhiza* seeds were dried by silica gel at room temperature and by the oven at constant temperature 50 °C to obtain various moisture content before stored sealed at room temperature. The optimum ultra dry method and the optimal moisture were evaluated by measuring the germination rate, germination tendency, and vigor index, etc. Soluble sugar and MDA content were measured to investigate the seed storability. **Results** Desiccation by

①收稿日期:2009-08-10

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划;丹参生产精准管理与远程信息控制试验与示范(2007BAD79B06)

作者简介:成清琴(1984—),女,硕士研究生在读,研究方向为药用植物资源保护与利用。

Tel: 15829532442 E-mail: sichor 520@163.com

* 通讯作者 慕小倩 Tel: 13700243612 E-mail: muxiaoqian@126.com

silica gel was more proper than by oven; ultradry storage of seeds has obvious advantages at the early stage, but with the prolong of the storage time, the advantages decreased; The optimal moisture for *S. miltiorrhiza* seeds storage at room temperature is about 7.5%; Seed storability is closely related to soluble sugar content in the seeds **Conclusion** *S. miltiorrhiza* seeds can be ultradry stored to preserve germplasm resources

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge seeds; ultra dry; optimal moisture content

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge, 又名血参、紫丹参、赤参, 是唇形科鼠尾草属多年生草本药用植物。现代药理研究表明, 丹参具有保护血管内皮细胞、抗心律失常、抗动脉粥样硬化、改善微循环、保护心肌、抑制和解除血小板聚集、增加冠脉流量、提高机体耐缺氧能力、抑制胶原纤维的产生和促进纤维蛋白的降解、抗炎、抗脂质过氧化和清除自由基以及保护肝细胞、抗肺纤维化等作用, 化学成分分为水溶性和脂溶性成分^[1,2], 丹参酮 II_A、隐丹参酮定量测定有相关报道^[3]。种子繁殖是丹参最常用的繁殖方法, 但由于其种子不耐贮藏, 给丹参栽培和种质资源保存带来了很大的困难^[4]。

种子超干贮藏是一种新兴的简便易行、高效低耗的种子保藏方法。据报道贮藏温度和含水量之间存在一定程度上的互补关系, 通过降低种子含水量有可能达到与低温贮藏同样或更好的贮藏效果^[5]。自 20 世纪 80 年代末期, 种子超干贮藏成为国内外种子学和植物资源保护学的一个研究热点, 但所涉及的物种主要集中在农作物和林木上, 关于药用植物方面的研究还比较少, 只有桔梗、牛膝、党参、红花、黄芩等^[5,6], 关于丹参种子超干贮藏的研究未见报道。本研究旨在确定丹参种子的最适超干方法以及短期贮藏的最适超干水分, 并进一步分析影响丹参种子耐藏性的可能原因, 为丹参种子科学贮藏提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料: 供试丹参种子于 2008 年采收自陕西天士力植物药业有限公司商洛丹参基地, 由陕西人民政府中药现代化领导小组专家顾问、天士力集团公司中药现代化研究院技术顾问梁宗锁教授鉴定。

1.2 方法

1.2.1 种子含水量的测定^[7]: 依据《国际种子检验规程》1996 年版的标准方法进行。

1.2.2 种子超干与贮藏: 根据测定的未超干丹参种子(对照)含水量(10.3%), 计算出达到不同含水量需去掉的水分, 分别用硅胶干燥法、恒温鼓风箱 50℃干燥法对丹参种子进行超干处理^[8], 隔一年时间

称量种子质量, 直至种子含水量为 1.5%、2.5%、3.5%、4.5%、5.5%、7.5%^[9]。所得超干种子及对照分别用铝箔袋密封, 室温贮藏(本实验中所有经过干燥处理的丹参种子统称“超干种子”, 按国际标准只有当含水量低于 5%~7% 时才称为“超干种子”; “硅 2.5%”表示用硅胶干燥到含水量为 2.5% 的丹参种子; “烘 2.5%”表示采用恒温鼓风箱干燥到含水量为 2.5% 的丹参种子)。

1.2.3 回湿: 参考水分逐级回湿方法^[9]。

1.2.4 种子相对电导率测定^[10]: 取 0.1 g 种子, 4 次重复, 装入尼龙网袋中, 先回湿, 再用无离子水冲洗数次, 吸干种子表面水分, 加 6 mL 无离子水室温下浸泡 12 h(以充分吸胀为准), 用 DDS-11A 型电导仪测定种子浸出液电导率(A_1), 再将测定完的样品和浸出液在沸水浴中煮 15 min, 冷却至 25℃时测定其绝对电导率(A_2), 相对电导率为 A_1 与 A_2 的比值。

1.2.5 发芽试验: 种子置培养皿, 2 层滤纸为发芽床, 每皿 100 粒, 25℃暗培养, 4 个重复, 第 5 天计算发芽势, 第 12 天计算发芽率, 测定胚根的平均长度, 计算活力指数(活力指数 = 发芽率 × 胚根平均长度^[7])。

1.2.6 丙二醛(MDA)测定: 参照侯福林(2004)方法。取 0.3 g 种子用 5% 三氯乙酸(TCA) 5 mL 匀浆, 3 000 r/min 冷冻离心 10 min, 取上清液 1 mL, 加 5 mL 0.5% 硫代巴比妥酸(TBA), 混匀后在沸水浴中保持 10 min, 用冷水迅速冷却至室温, 混合物于 3 000 r/min 冷冻离心 10 min, 分别测定上清液在 450、532 和 600 nm 下的吸光度值。单位种子中 MDA 质量分数计算公式: $MDA(\text{mmol/g FW}) = [6.452 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.599 A_{450}] \frac{V_t}{FW \times V_s}$, 其中 FW 为种子鲜质量(g); V_t 为提取液体积(mL); V_s 为测定用提取液体积(mL)。

1.2.7 可溶性糖量测定^[7]: 采用蒽酮硫酸法。

1.2.8 丹参种子人工老化: 根据程红焱等^[5,6]的方法, 将不同含水量的丹参种子用双层铝箔袋密封, 于 50℃的恒温箱中放置 10 d 后取出, 进行发芽试验, 预测不同含水量种子的耐贮藏性(即活力与生活力)。

2 结果与分析

2.1 人工老化法预测不同含水量丹参种子活力及生活力: 由表 1 可知, 除硅 2.5% 外, 超干丹参种子发芽率、发芽势、活力指数均高于对照, 其中硅 5.5%、硅 7.5%、烘 4.5% 超干种子发芽率、发芽势、发芽指数均显著高于对照, 这说明超干种子的活力及生活力整体均高于对照种子; 除烘 7.5% 外, 超干种子相对电导率均低于对照, 且硅 2.5%、硅 3.5%、硅 5.5%、烘 2.5%、烘 3.5% 相对电导率显著低于对照, 这说明超干种子细胞膜损伤小于对照, 超干种子在老化过程中膜的结构和功能保持得更完善。经人工老化的结果可预测出, 超干贮藏丹参种子的最适含水量为硅 5.5%~7.5% 或烘 4.5%。

表 1 贮藏两个月并人工老化 10 d 后不同含水量丹参种子发芽率、发芽势、活力指数及相对电导率变化

Table 1 Changes of germination rate, germination tendency, vigor index, and relative electrical conductivity of *S. miltiorrhiza* seeds with different moisture contents after storage for two months and accelerated aging for 10 d

处 理	发芽率/%	发芽势/%	活力指数/(mm·%)	相对电导率/%
对照	36.00±1.00	30.00±1.15	197.99±39.46	56.48±2.12
硅 2.5%	37.67±1.67	31.67±1.33	178.10±18.00	45.17±2.34*
硅 3.5%	38.00±3.06	32.00±3.79	222.94±9.85	47.37±3.05*
硅 4.5%	40.33±1.45	36.00±2.08	262.47±27.98	49.22±2.56
硅 5.5%	51.33±1.76*	41.33±1.86*	316.79±33.16*	41.86±2.40*
硅 7.5%	50.00±3.00*	40.67±2.0*	362.67±17.08*	52.41±1.61
烘 1.5%	45.00±4.62	36.67±3.28	261.00±25.73	49.19±1.82
烘 2.5%	45.00±1.15	40.67±1.45*	302.14±34.51*	44.61±2.36*
烘 3.5%	44.33±3.53	37.67±2.67	255.07±14.74	44.27±1.88*
烘 4.5%	49.67±4.06*	42.00±4.73*	305.95±24.98*	52.17±0.49
烘 5.5%	41.33±4.91	36.00±5.03	287.68±34.18*	55.40±3.43
烘 7.5%	42.00±5.03	35.67±4.67	265.00±16.08	57.18±2.08

* 表示处理与对照间差异显著($P < 0.05$)

* means there is significant difference between sample and control ($P < 0.05$)

2.2 不同贮藏时间内丹参种子活力及生活力的变化

2.2.1 不同贮藏时间内丹参种子发芽率变化: 如图 1 所示, 贮藏 2 个月后, 硅 3.5%~7.5% 和烘 2.5%~4.5% 以及烘 7.5% 的超干种子均具有较高的发芽率, 且显著高于对照; 但综合贮藏 3、4、5 个月的发芽率曲线来看, 继续贮藏后超干种子在发芽率上的优势下降, 仅硅 5.5%~7.5% 和烘 7.5% 超干种子发芽率高于对照, 其他超干种子发芽率均和对照持平或低于对照, 这说明常温密封贮藏丹参种子的最适含水量为 5.5%~7.5%。

2.2.2 不同贮藏时间内丹参种子发芽势变化: 如图 2 所示, 贮藏 2 个月后, 除硅 2.5%、烘 1.5%、烘 4.5% 外, 其他超干种子的发芽势都显著高于对照; 但经过 3、4、5 个月的贮藏后, 超干种子的发芽势下

降较快, 仅硅 7.5% 的发芽势仍高于对照, 这说明常温密封贮藏丹参种子的最适含水量为硅 7.5%。

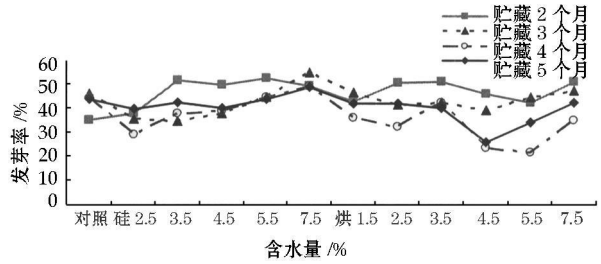


图 1 不同贮藏时间不同含水量种子发芽率变化

Fig. 1 Germination rate of *S. miltiorrhiza* seeds with different moisture contents after storage for various months at room temperature

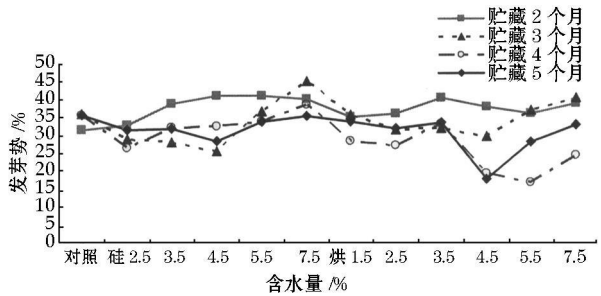


图 2 不同贮藏时间不同含水量种子发芽势变化

Fig. 2 Germination tendency of *S. miltiorrhiza* seeds with different moisture contents after storage for various months at room temperature

2.2.3 不同贮藏时间内丹参种子活力指数变化: 如图 3 所示, 在前 3 个月的贮藏过程中, 多数超干种子活力指数高于或显著高于对照; 但经过 4 个月的贮藏后, 超干种子的活力指数下降较对照要快, 5 个月后, 超干种子在活力指数上的优势变得不明显, 仅硅 7.5% 显著高于对照, 这说明硅 7.5% 更有利于延长种子贮藏时间。

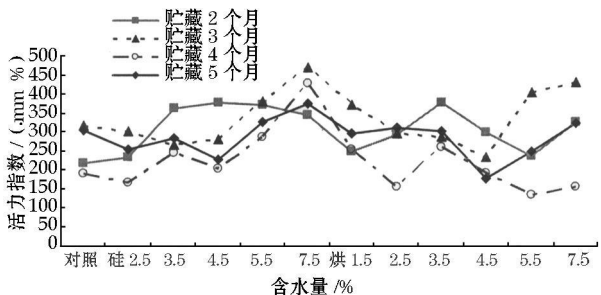


图 3 不同贮藏时间不同含水量种子活力指数变化

Fig. 3 Vigor index of *S. miltiorrhiza* seeds with different moisture contents after storage for various months at room temperature

2.2.4 不同贮藏时间内丹参种子相对电导率变化: 如图 4 所示, 整体来说, 超干种子与对照相对电导率

的差异不显著,因此可以得出适当的超干处理不会引起严重的膜损伤;硅 7.5% 超干种子的相对电导率要低于其他处理,更好地保持了膜结构和功能的完整性。

2.3 不同干燥方法对丹参种子活力及生活力的影响:如图 1~3 所示,整体来说两种超干方法所得的超干丹参种子在发芽率、发芽势、活力指数上的差异不明显,但随着贮藏时间的延长,硅 4.5%~7.5% 优于烘 4.5%~7.5%,而烘 1.5%~3.5% 优于硅 2.5%~3.5%;但硅 4.5%~7.5% 的发芽率、发芽势、活力指数高于低烘 1.5%~3.5%,这说明硅胶干燥种子具有更强的耐贮藏性,硅胶干燥法更安全。

由图 4 可知,硅胶干燥种子相对电导率要低于烘箱干燥种子,更好地保持了膜结构和功能的完整性,这说明硅胶干燥方法比烘箱干燥方法更安全。

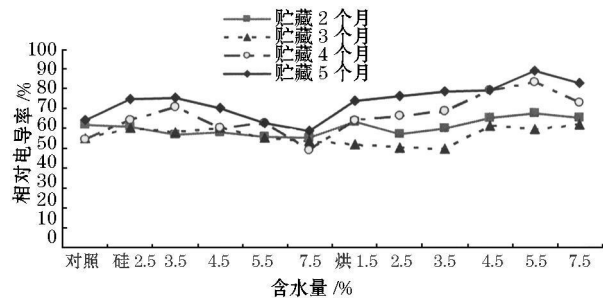


图 4 不同贮藏时间不同含水量种子相对电导率变化
Fig. 4 Relative electrical conductivity of *S. multiorrhiza* seeds with different moisture contents after storage for various months at room temperature

2.4 不同含水量丹参种子 MDA 及可溶性糖量变化:由图 5 可以看出,在对照~烘 3.5% 区域,可溶性糖和 MDA 有着明显的正比关系,即可溶性糖量高,MDA 量也高;在烘 4.5%~7.5% 区域,可溶性糖和 MDA 则存在反比关系;因为 MDA 可反映种子老化程度,由此可推测种子耐贮藏性与可溶性糖量有关。

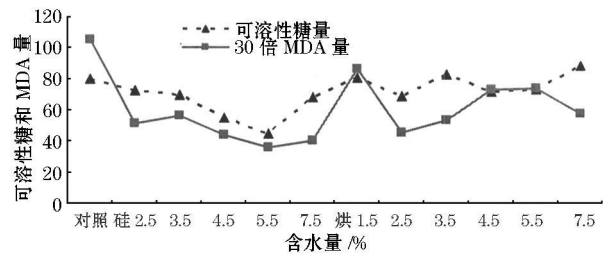


图 5 贮藏 5 个月后不同含水量种子 MDA 量和可溶性糖量的变化
Fig. 5 Soluble sugar and MDA content of *S. multiorrhiza* seeds with different moisture contents after storage of five months at room temperature

3 讨论

已有研究证实贮藏温度和含水量之间在一定程度上存在互补关系,通过降低种子含水量有可能达到与低温贮藏同样或更好的贮藏效果^[5]。本实验研究了超干丹参种子在常温下活力与生活力的变化,得出硅 7.5% 的超干种子在人工老化和自然老化条件下,其发芽率、发芽势、活力指数等指标较其他含水量的种子均保持明显的优势,可见超干处理对丹参种子活力及生活力有明显影响,丹参种子可以通过超干贮藏的方法来保存种质资源。

世界联合国粮农组织(FAO)和国际植物遗传资源委员会(IBPGR)制定的长期保存种子种质的理想条件是 5%~7% 的含水量和 -18~-25℃ 的贮藏温度。本实验结果表明,贮藏丹参种子的最佳含水量为 7.5% 左右,基本符合国际 5%~7% 标准,略高于标准也是因植物多样性所致。关于最佳贮藏温度是否为国际标准的 -18~-25℃,还有待于进一步考证。

人工老化实验的结果预测出超干贮藏丹参种子的最适含水量为硅 5.5%~7.5% 或烘 4.5%,而超干种子在自然条件下贮藏 2~5 月后的实验结果表明,随着贮藏时间的推移,超干种子的耐藏性优势逐渐下降,仅硅 7.5% 保持着相对明显的优势,由此可知:自然老化结果与人工老化结果并不完全一致,采用人工老化法预测超干种子贮藏潜力的方法并不可靠,只能用作参考。

本实验还得出硅胶干燥种子在活力、生活力、膜完整性等方面要优于烘箱干燥种子,这说明采用硅胶脱水比用烘箱更温和、更安全,所得的超干种子其耐藏性也更高,这一结论与胡伟民等(2002)对玉米的超干处理结果一致。

关于影响丹参种子耐贮藏性的原因,本实验着重在丹参种子组分上进行了分析研究。由图 5 可以看出,MDA 量与可溶性糖量之间存在明显的对应关系,而 MDA 量是反映种子老化程度的重要指标,由此可得出种子的耐藏性与可溶性糖量有关。研究表明,脱水过程中能产生大量的双糖,双糖能与膜磷脂的极性头部之间形成氢键,氢键使每个磷脂分子之间保持一定的空间距离,从而使得膜的液晶态得以保持。据此可以推断,可溶性糖的消耗尤其是双糖的消耗正是用于保持膜结构和功能的稳定性,因此,低含水量的种子消耗了更多的可溶性糖,保持了较高的活力,MDA 量低;反之,可溶性糖量高的种子如烘 1.5%、烘 4.5% 等超干种子活力低,MDA

量也高。

李绍军等^[1]关于丹参种子组分系统分析得出丹参种子粗脂肪量为 16.28%, 蛋白质总量为 14.46% (其中疏水蛋白约占 82.97%), 可溶性总糖量为 5.3%。由此结论可知, 丹参种子含油量较高, 因此容易引起脂质过氧化, 这是丹参种子不耐贮藏的一个重要原因; 其次, 疏水蛋白和粗脂肪量高, 而亲水的糖量低, 因此可以得出采用合适的干燥方法可以将丹参种子含水量降到较低水平, 适当降低种子含水量可以减少种子膜脂质过氧化, 从而提高丹参种子的耐藏性, 这一结论在本实验中也得到了证实。此外, 还可以看出丹参种子本身的可溶性糖量并不高, 仅仅依靠可溶性糖的作用来维持膜系统显然是不够的。还有研究也表明两性物质在脱水过程中从水相进入脂相的行为有利于种子细胞忍耐水分丧失, 是种子耐脱水性的主要因子之一。因此两性物质的研究是今后探索种子耐藏机制的一个重要方向。

由于时间限制, 本实验结果只适用于丹参种子短期贮藏, 关于丹参种子长期超干贮藏的最适含水量有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵娜, 郭治昕, 赵雪, 等. 丹参的化学成分与药理作用 [J]. 国外医药·植物药分册, 2007, 22(4): 155-160
- [2] 陈磊, 陆茵, 郑仕中. 丹参药理活性成分的整合效应 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 476-479
- [3] 闫豫君, 杨广惠, 贺浪冲. RP-HPLC 法同时测定丹参中丹参酮Ⅱ_A 和隐丹参酮的含量 [J]. 中草药, 2002, 33(4): 363-365
- [4] 陈瑛. 实用中药种子技术手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999
- [5] 程红焱. 种子超干贮藏技术研究的背景和现状 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(2): 113-124
- [6] 程红焱. 种子超干贮藏技术应用面临的问题和研究方向 [J]. 云南植物研究, 2006, 28(1): 59-68
- [7] 国际种子检验协会 (ISTA), 农业部全国农作物种子质量监督检测中心. 国际种子检验规程 [J]. 北京: 中国农业出版社, 1999
- [8] 孙爱清, 高荣岐, 尹燕桦, 等. 不同类型种子超干燥技术研究 [J]. 种子, 2007, 26(12): 56-60
- [9] 王珏, 吾拉尔古丽, 王建华. 黄芩种子超干和回湿方法研究 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1713-1716
- [10] 宋松泉, 程红焱, 成春林, 等. 种子生物学研究指南 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 2004
- [11] 李绍军, 舒志明, 魏良柱, 等. 丹参种子脂肪及蛋白质组分分析 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(9): 1899-1903

蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷量的研究

张静赟, 李炜*, 杨飞快, 朱清风

(西安天健医药科学研究所, 陕西 西安 710075)

摘要:目的 研究蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷的量。方法 以蒺藜新苷为对照, 采用紫外分光光度法测定甾体皂苷的量; 以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照, 采用高效液相法测定总黄酮醇苷的量。结果 不同产地和采收期蒺藜全草中甾体皂苷和总黄酮醇苷的量有较大差异, 蒺藜全草部位中以叶中量最高, 果实量最低。结论 所建立的分析方法准确可行, 可用于蒺藜药材质量控制; 以为蒺藜全草的资源利用及质量控制提供一定的科学依据。

关键词: 蒺藜全草; 甾体皂苷; 总黄酮醇苷

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)05-0829-04

蒺藜 *Tribulus terrestris* L. 为蒺藜科蒺藜属植物, 其果实为传统中药, 为历版药典收载, 具有平肝解郁、活血祛风、明目、止痒的功效^[1]。蒺藜花、苗、根也有药用记载^[2]。现代研究表明, 蒺藜含有皂苷类、黄酮类、生物碱等多种成分, 已开发成多种制剂, 用于医学和保健领域^[3]。皂苷类成分具有防治心脑血管疾病、增强性功能、抵制迟发型变态反应及抗衰

老等药理活性^[3]; 黄酮类成分有促进混合培养的视网膜神经细胞存活的作用, 并且在心血管系统等方面也有一定活性^[4]。目前对蒺藜的质控方面研究少有报道^[5,6]。笔者参考相关文献资料^[1-7], 以槲皮素、山柰酚、异鼠李素为对照, 采用高效液相色谱法测定总黄酮醇苷的量; 并研究用紫外分光光度法, 以蒺藜新苷^[8]为对照, 测定蒺藜中总甾体皂苷的量。

①收稿日期: 2009-08-14

* 通讯作者 李炜 E-mail: xinyao21@126.com