

通关藤种子质量检验方法研究

肖雪峰^{1,2}, 郭巧生^{1*}, 刘丽¹, 李超¹, 王平理³, 杨生超⁴, 杭悦宇⁵

1. 南京农业大学中药材研究所, 江苏 南京 210095

2. 铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554300

3. 云南信通植物药业有限公司, 云南 蒙自 661100

4. 云南农业大学, 云南 昆明 605201

5. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014

摘要:目的 研究通关藤 *Marsdenia tenacissima* 种子检验方法, 为制定通关藤种子检验规程及质量分级提供依据。方法 以当年采收的不同产地通关藤种子为材料, 参照国际植物种子检验规程和中国农作物种子检验规程, 对其质量进行检验, 探索通关藤种子质量检验的方法。结果 通关藤种子净度分析送检样本至少 900 g, 实验样品至少 90 g; 种子千粒质量测定选用五百粒法; 含水量测定选用高恒温 (133 ± 2) °C 烘干法, 烘干时间为 6 h; 发芽前自来水浸种 24 h, 于砂中在 30 °C 光照条件下做发芽实验, 发芽计数时间为 1~8 d; 生活力测定采用 0.1% TTC 溶液染色, 于恒温 35 °C 黑暗条件下染色 3 h。结论 初步建立了包括扦样、净度分析、真实性鉴定、千粒质量、发芽条件、含水量及生活力 7 项指标在内的通关藤种子质量检验方法。

关键词: 通关藤; 种子; 种子检验规程; 发芽; 质量检验方法

中图分类号: R282.4 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)23-4264-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.025

Seed quality test methods of *Marsdenia tenacissima*

XIAO Xue-feng^{1,2}, GUO Qiao-sheng¹, LIU Li¹, LI Chao¹, WANG Ping-li³, YANG Sheng-chao⁴, HANG Yue-yu⁵

1. Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

2. Tongren Polytechnic College, Tongren 554300, China

3. Yunnan Xintong Phytopharma Ceutical Co. Ltd, Mengzi 661100, China

4. Yunnan Agricultural University, Kunming 605201, China

5. Institute of Botany Jiangsu Province and the Chinese Academy of Science, Nanjing 210014, China

Abstract: Objective To optimize the testing methods for seed quality of *Marsdenia tenacissima*, and provide basis for establishing seed quality standard of *M. tenacissima*. **Methods** The seed quality of *M. tenacissima* from different producing areas was measured based on the International Seed Testing Protocol made up by ISTA and Rules for Agricultural Seed Testing issued by China. **Results** The samples weight of *M. tenacissima* were at least 900 g for purity analysis and were at least 90 g for testing. The 1 000-seed weight was determined by 500-seed method, and the water content was carried out by higher temperature (133 ± 2) °C for 6 h. After soaking in water for 24 h, *M. tenacissima* seeds were cultured in wet sand at 30 °C for 1—8 d under illumination for germination testing. Seed viability was tested by TTC method in 35 °C for 3 h. **Conclusion** The seed testing methods for quality items of *M. tenacissima* have been initially established.

Key words: *Marsdenia tenacissima* (Roxb) Wight et Arn.; seed; seed testing protocol; seed germination; quality test methods

通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb) Wight et Arn. 为萝藦科牛奶菜属藤本植物, 以其干燥藤茎入药, 具有消炎降压、清热解毒、保肝利尿、散结止痛等功效^[1]。我国主要分布于云南、贵州、广西、四川等地^[2-3]。通关藤目前主要来源于野生, 由于大

量的采挖及生态环境的破坏, 野生资源逐渐减少。通关藤的人工种植已经在其主产地云南等地展开, 其人工种植及自我更新均以种子为繁殖材料, 但由于通关藤的花期长, 种子成熟期持续时间长, 且存在花多食少的问题。因此通过建立标准化的通关藤

收稿日期: 2016-06-10

作者简介: 肖雪峰, 女, 硕士研究生。

*通信作者 郭巧生 Tel/Fax: (025)84395980 E-mail: gqs@njau.edu.cn

种子检验方法,对播种前种子进行质量检验,是保证种子质量的重要措施。

目前,通关藤的研究主要集中在种子萌发特性^[4]以及种子引发^[5],分子生物学和资源的差异化鉴别^[6-8]及化学成分、药理作用^[9-11]等方面,关于通关藤种子检验规程等内容研究尚未见文献报道。本研究参照《农作物种子检验规程》^[12],结合通关藤种子的生理特性及不同产地种子的差异对通关藤种子的净度、千粒质量、真实性鉴定、含水量、发芽率、生活力等主要指标进行了系统的研究,以期对通关藤种子的质量检验规程及种子分级标准的初步制定提供依据。

1 材料

所用种子于2013年3月分别采自通关藤主产地云南省马关县、石屏县、广南县以及勐腊县当地野生通关藤植株,实验中分别标记为MG、SP、GN、ML。经南京农业大学中药材研究所郭巧生教授鉴定为通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb) Wight et Arn. 的种子,于 (4.0 ± 0.5) ℃冰箱贮藏备用。

2 方法

2.1 扦样

按GB/T3543.2“农作物种子检验规程”扦样方法执行,采用徒手减半法分取初次样品和实验样品。

2.2 净度分析

按GB/T3543.3-“农作物种子检验规程”净度分析执行。在不损伤种子的基础上进行检查,直接挑选纯净种子。将每份试样的净种子、其他物种种子、干瘪坏种子以及杂质分开后分别称重。随机称取 (30.00 ± 0.05) g,4次重复。

2.3 真实性鉴定

通过对种子形态、大小、表面特征及种子颜色等的鉴定能够较为准确地鉴别物种的真伪。采用种子外观形态法,随机数取100粒种子,4次重复,逐粒观察并记录通关藤种子形态特征^[13]。

2.4 千粒质量测定

取清选后的MG、SP、GN、ML的种子分别考察百粒法、五百粒法及千粒法测定种子质量。①百粒法:随机从净种子中数取100粒,重复6次,分别记录百粒质量,计算标准差及变异系数;②五百粒法:随机从净种子中取500粒,重复3次,分别记录五百粒质量,计算标准差及变异系数;③随机从净种子中取1000粒,重复3次,分别记录千粒质量,计算标准差及变异系数。

2.5 含水量测定

取MG、SP、GN、ML清选后的种子分别采用高温 (133 ± 2) ℃恒温烘干法与低温 (105 ± 2) ℃恒温烘干法进行含水量测定。①高温恒温烘干法:每隔1h取出放入干燥器内冷却至室温后称定质量,记录种子水分的损失量,总烘干时间为7h;②低温恒温烘干法:烘干10、12、14、16h后取出称定质量。计算种子水分损失量。以上实验每次称 (5.00 ± 0.03) g种子,4次重复。

2.6 自然吸胀特性

取清选后的MG、SP、GN、ML的种子分别室温自来水浸种0.5、1、2、3、4、5、6、12、24、36、48h后取出,吸水纸吸干水分后称定质量,记录每次种子的吸水量,考察通关藤种子自然吸胀特性。每处理每次称 (5.00 ± 0.03) g种子,4次重复。

2.7 发芽率测定

2.7.1 发芽前处理 选取饱满、大小基本一致的做过净度分析的4个产地的通关藤种子,室温条件下自来水浸种0、12、24、36h,吸水纸吸干表面水分。

2.7.2 适宜发芽床的确定 选取室温条件下自来水浸种24h,吸水纸吸干表面水分的种子。于30℃恒温,光照(16h光照,8h黑暗)条件下作发芽处理。发芽床实验设5个处理:①在发芽盒中铺2层湿润的滤纸,然后置种;②发芽盒中放入2层湿润的滤纸折纸,于褶沟处置入种子;③发芽盒中铺入湿润的1层棉纱,然后置种;④发芽盒中铺入湿润的1层棉纱,然后置种,于种好的种子上盖1层湿润的棉纱;⑤发芽盒中铺入4cm厚的湿润细砂(砂水体积比为4:1),然后置种。

2.7.3 适宜发芽温度的确定 经室温条件下自来水浸种24h,吸水纸吸干表面水分的种子。分别置于15、20、25、30、35℃,光照16h条件下,恒温培养,以砂中为发芽床。

2.7.4 发芽光照的确定 经室温条件下自来水浸种24h,吸水纸吸干表面水分的种子。以砂中为发芽床,于30℃恒温条件下进行光照(16h光照,8h黑暗)和24h全黑暗处理。

2.7.5 发芽计数时间的确定 根据种子发芽表现,确定初次计数时间和末次计数时间。以胚根伸出种皮2mm时的天数为初次计数时间,以种子萌发数达到最高时,以后再无萌发种子出现时的天数为末次计数时间。

以上发芽实验每处理400粒种子,4次重复,

每重复 100 粒种子。

2.8 生活力测定

2.8.1 种子预处理 室温条件下, 蒸馏水浸种 12 h 后, 纵切种子使其露出子叶和胚。

2.8.2 染色的实验条件确定 分别设置氯化三苯基四氮唑 (TTC) 溶液浓度为 0.1%、0.3%、0.5%, 染色时间为 1、3、6、12 h, 于 30、35、40 °C 条件下对 4 个不同产地的种子进行染色处理。每个处理 3 次重复, 每重复 100 粒种子。染色结束后, 沥去溶液, 自来水冲洗 3 次, 将种子摆在培养皿内, 逐一检查, 并记录染色情况。

2.8.3 有无生活力鉴定标准的确定 凡种胚全部或大部分被染成红色的即为具有生活力的种子; 胚或胚乳及胚根都不完全着色的为死种子; 若种胚中非关键部位如子叶的一部分被染色, 而胚根尖端不染色, 属于不能正常发芽的种子^[13]。

2.9 数据分析

本实验采用 Microsoft Excel 2007 软件对数据进行处理和作图, 采用 SPSS Statistics 20.0 分析软件对数据进行差异显著性检验。

3 结果与分析

3.1 扦样

根据通关藤种子的市场流通量及国际检验规程对于净度分析实验样品不少于 2 500 粒种子的规定, 以及送检样品为实验样品 10 倍量等要求, 确定通关藤种子的种子净度分析实验所需试样量至少为 90

g, 送检样品最少为 900 g。

3.2 净度分析

4 个产地的种子试样均没有其他植物种子, 所以本检验不用记录这一项。如表 1 所示, 使用此方法做净度分析, 各试样增失差距均没有偏离原始质量的 5%, 所以此方法和程序切实可行。

3.3 真实性鉴定

通关藤种子为长圆状的卵圆形, 长 1.12~1.43 cm, 宽 0.33~0.46 cm。种皮光滑较硬, 表面呈深棕色。顶端有白色绢毛, 长约为种子的 4 倍。

3.4 千粒质量测定

分别采用百粒法、五百粒法、千粒法对 4 个产地通关藤种子质量进行测定, 结果见表 2。五百粒法和千粒法各处理间变异系数都小于 3.0%, 测定值有效。而百粒法中, ML 种子变异系数较大, 为 14.8%。综合比较 3 种方法, 五百粒法处理的种子间变异系数最小, 且所需种子量不是最多, 故确定五百粒法为通关藤种子千粒质量测定的方法。

3.5 含水量测定

由表 3 可见, 通关藤种子在高温恒温烘干 5~6 h 后, 失水量基本保持稳定, 烘干 7 h 时的失水量已经没有任何变化, 在 5~6 h 时, 种子的失水量无显著差异, 综合比较 4 个产地种子烘干情况, 选择烘干 6 h 为宜; 在低温恒温烘干 14~16 h 后, 种子的失水量变化不明显, 且在 14~16 h 内失水量差异不显著, 综合 4 个产地种子情况, 选择烘干 16 h。对

表 1 通关藤种子净度分析结果 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 1 Purity of *M. tenacissima* seeds ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

编号	分取样品质量/g	净种子质量/g	碎屑质量/g	干瘪坏种子质量/g	净度后总质量/g
MG	30.01 ± 0.01	26.68 ± 0.28	0.60 ± 0.10	2.47 ± 0.06	29.71 ± 0.16
SP	30.01 ± 0.02	27.76 ± 0.66	0.60 ± 0.17	1.29 ± 0.01	29.65 ± 0.49
GN	30.02 ± 0.01	24.69 ± 0.54	2.38 ± 0.12	2.33 ± 0.13	29.40 ± 0.31
ML	30.03 ± 0.02	27.88 ± 0.13	1.04 ± 0.04	1.01 ± 0.05	29.92 ± 0.05

表 2 通关藤种子千粒质量测定 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Weight determination of *M. tenacissima* seeds ($\bar{x} \pm s$)

编号	百粒法 ($n=6$)		五百粒法 ($n=3$)		千粒法 ($n=3$)	
	百粒质量/g	变异系数/%	五百粒质量/g	变异系数/%	千粒质量/g	变异系数/%
MG	2.49 ± 0.05	2.00	12.34 ± 0.08	0.64	23.36 ± 0.69	2.95
SP	2.99 ± 0.04	1.34	14.87 ± 0.03	0.20	30.39 ± 0.50	1.65
GN	2.37 ± 0.02	0.84	11.66 ± 0.04	0.34	22.51 ± 0.06	0.27
ML	3.04 ± 0.45	14.8	16.14 ± 0.03	0.19	34.39 ± 0.40	1.22

表 3 通关藤种子含水量测定 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)
Table 3 Water content of *M. tenacissima* seeds ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

方法	烘干时间/h	失水量/%			
		MG	SP	GN	ML
高温法 (133 ± 2) °C	1	7.27 ± 0.09 g	6.61 ± 0.02 f	6.93 ± 0.07 c	7.54 ± 0.07 e
	2	7.89 ± 0.11 cd	7.19 ± 0.03 de	7.44 ± 0.08 ab	8.06 ± 0.05d
	3	8.02 ± 0.09 b	7.32 ± 0.02 c	7.58 ± 0.09 a	8.20 ± 0.06 c
	4	8.11 ± 0.11 ab	7.40 ± 0.04 b	7.67 ± 0.08 a	8.29 ± 0.08 bc
	5	8.20 ± 0.11 a	7.49 ± 0.04 a	7.77 ± 0.08 a	8.37 ± 0.05 ab
	6	8.20 ± 0.11 a	7.52 ± 0.40 a	7.81 ± 0.06 a	8.41 ± 0.02 a
	7	8.20 ± 0.11 a	7.52 ± 0.40 a	7.81 ± 0.06 a	8.41 ± 0.02 a
低温法 (103 ± 2) °C	10	7.62 ± 0.06 f	7.15 ± 0.04 e	7.21 ± 0.45 ab	8.29 ± 0.02 bc
	12	7.70 ± 0.04 ef	7.25 ± 0.05 d	7.41 ± 0.50 a	8.40 ± 0.02 a
	14	7.78 ± 0.06 de	7.33 ± 0.05 bc	7.53 ± 0.49 a	8.46 ± 0.06 a
	16	7.86 ± 0.06 de	7.22 ± 0.05 bc	7.56 ± 0.51 a	8.46 ± 0.06 a

同列不同小写字母表示差异显著 $P < 0.05$, 下同

Different lowercase letters indicate $P < 0.05$, same as below

高温恒温烘干法和低温恒温烘干法进行综合比较可知, GN 和 ML 2 个产地的种子在高恒温烘干 6 h 和低温烘干 16 h 时的失水量差异不显著, MG 和 SP 2 个产地的种子在高恒温烘干下失水量显著高于低温烘干法, 这可能是由于低温恒温烘干法无法完全排出种子内的游离水。鉴于高温烘干法所需时间较短且烘干比较彻底, 故选择高温恒温烘干法烘干 6 h 测定通关藤种子含水量为宜。

3.6 自然吸胀特性

由图 1 可知, 4 个产地通关藤种子在浸泡 12 h 后, 吸水率显著上升, 吸水 24 h 后, 种子吸水率缓慢, 且几乎达到恒定状态, 即认为种子已充分吸胀, 故浸种时间为 24 h 为宜。

3.7 发芽率测定

3.7.1 适宜浸种时间 由图 1 可知 4 个产地的通关

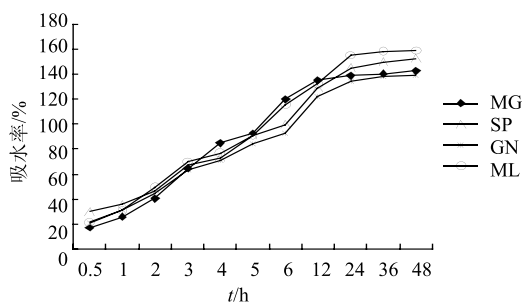


图 1 通关藤种子吸水量与浸泡时间关系

Fig. 1 Water quantity dynamic of *M. tenacissima* seeds under different soaking time

藤种子在浸泡 24 h 后充分吸胀, 故初步推测浸种时间为 24 h。由表 4 可知, 在相同发芽条件下, 4 个产地种子的发芽率都在浸种 24 h 后达到最高, 除 SP 外, 另外 3 个产地种子浸种 24 h 都与其他 3 个处理存在显著差异。浸种 36 h 后, 种子的发芽率有显著下降趋势, 这可能是由于种子过分吸胀使得种子的细胞壁过分吸水而使得渗透压改变所致。

3.7.2 适宜发芽床 4 个产地通关藤种子在不同发芽床的发芽结果见表 5。各试样在砂床上的发芽率存在与纸床和棉床存在显著差异, 这可能是由于不同发芽床的透气性以及保水性有差异所致, 这可能是由于通关藤种子相对较大, 而在砂中发芽床中能四周均匀吸收水分, 从而保证种子能有效吸收水分, 且细砂准备起来也比较方便, 故选择砂中作为通关藤种子的发芽床。

3.7.3 适宜温度范围 在 5 个不同温度处理下, 通关藤种子的发芽率呈现极显著的差异性, 见表 6。可见温度是影响通关藤种子发芽率的一个重要因素。25、30 °C 都比较适合通关藤种子发芽, 30 °C 时, 4 个产地通关藤种子的发芽率均最高, 都显著高于其他 4 个温度, 故选择 30 °C 为通关藤种子的最适发芽温度。

3.7.4 光照 由表 7 可知, 除 SP 这个产地外, 3 个产地通关藤种子在光照条件下的发芽率都显著高于黑暗条件下的发芽率, 但是黑暗下通关藤种子的发芽率也不低, 都在 80% 左右, 说明光照不是影响通

表 4 浸种时间对通关藤种子发芽率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)Table 4 Effects of different soaking time on germination rate of *M. tenacissima* seeds ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

浸种时间/h	发芽率/%			
	MG	SP	GN	ML
0	88.67±0.58 b	80.67±1.53 a	82.00±2.00 c	78.33±2.08 b
12	90.33±0.58 b	80.33±0.58 a	86.00±1.73 b	81.67±2.08 b
24	93.67±0.58 a	84.33±3.21 a	90.33±1.15 a	89.33±2.52 a
36	85.00±2.65 c	75.33±2.08 b	80.33±1.53 c	72.33±3.21 c

表 5 不同发芽床对通关藤种子发芽率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)Table 5 Germination rate of *M. tenacissima* seeds under different ground substances ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

发芽床	发芽率/%			
	MG	SP	GN	ML
纸上	83.33±1.53 c	78.33±2.08 b	77.33±3.79 d	79.33±1.53 d
纸间	86.00±2.00 c	82.67±3.06 b	81.00±1.00 bc	75.67±1.15 e
棉上	86.00±2.65 c	84.00±2.65 ab	84.33±2.52 b	81.67±1.53 bc
棉间	90.00±1.00 b	83.67±3.51 ab	85.33±3.51 b	83.67±2.52 b
砂中	93.67±0.58 a	84.33±3.21 a	90.33±1.15 a	89.33±2.52 a

表 6 不同温度对通关藤种子发芽率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)Table 6 Germination rate of *M. tenacissima* seeds under different temperature ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

温度/℃	发芽率/%			
	MG	SP	GN	ML
15	58.00±2.00 d	54.33±3.51 c	50.00±1.73 c	55.67±4.16 c
20	85.67±3.21 c	71.33±1.53 b	73.00±4.36 b	81.33±2.08 b
25	89.67±0.58 b	73.33±0.58 b	75.67±3.06 b	87.00±1.00 a
30	93.67±0.58 a	84.33±3.21 a	89.33±2.52 a	90.33±1.15 a
35	50.00±1.00 e	45.67±6.11 d	46.67±4.04 c	46.67±3.15 d

表 7 光照对通关藤种子发芽率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)Table 7 Germination rate of *M. tenacissima* seeds under different illumination conditions ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

处理	发芽率/%			
	MG	SP	GN	ML
光照	93.67±0.58 a	84.33±3.21 a	90.33±1.15 a	89.33±2.52 a
黑暗	80.00±1.00 b	81.67±2.52 a	81.67±4.04 b	77.33±2.31 b

关藤种子发芽率的关键性因素。在后期对种苗的观察中,黑暗下的幼苗根茎比都在 1:5 左右,且子叶都出现白化现象。因此,光照更适宜通关藤种子的萌发。

3.7.5 初次和末次发芽计数时间 通关藤种子发芽持续时间不长,仅仅 10 d 左右即可达到发芽率稳定水平,见图 2。通关藤种子吸水后,于砂中 30 ℃光照条件下培养 1 d 后即开始发芽,第 3~4 天发芽速度明显增加,发芽 7 d 后,种子发芽速度明显下降,并趋于平缓,8 d 以后无种子发芽。因此,整个发芽计数时间为 1~8 d,第 1 天为初次计数时间,第 8 天为末次计数时间。

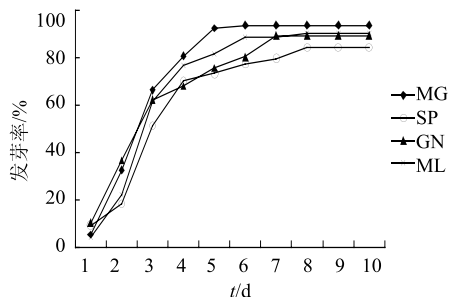


图 2 通关藤种子的发芽率与时间的关系

Fig. 2 Relationship between germination rate and time of *M. tenacissima* seeds

3.8 生活力测定

本实验采用正交试验研究 TTC 法测定通关藤种子的生活力,分别考察了染色温度、四唑溶液浓度、染色时间对 4 个产地种子染色的情况。经多方因素方差分析,染色时间的长短对种子着色率的影响比较大,这可能是由于染色前将种子纵切使其完全暴露并接触到染色试剂而使其上色迅速。由表 8 可知,不同产地的种子在不同浓度 TTC 溶液处理 6 h 后着色率都高达 99.00%左右,且子叶与胚根全部着色,二者差异不大,易与衰弱组

织的染色混淆。综合比较,由表 8 可知,处理较好的是 3、5、7、4 组,除第 4 组外,另外 3 组染色更深,不易与衰弱种子的染色区别,且 4 组需要时间更短,故选择 0.1%四唑溶液 35 ℃条件下染色 3 h。

3.9 通关藤种子检验规程的制定

本研究从扦样、净度分析、真实性鉴定、千粒质量、发芽条件、含水量及生活力 7 个方面对 4 个产地的通关藤种子质量检验方法进行研究,初步确定适宜通关藤种子质量指标的检验方法,见表 9。

表 8 生活力测定正交试验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Determination of *M. tenacissima* seeds viability ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	染色温度/℃	TTC/%	染色时间/h	着色率/%			
				MG	SP	GN	ML
1	30	0.1	1	20.67±2.89 g	27.67±3.05 e	21.00±2.00 g	30.00±4.00 g
2	30	0.3	3	51.00±3.61 f	64.33±5.03 d	55.00±1.73 f	59.00±2.65 f
3	30	0.5	6	95.67±1.53 ab	99.00±1.00 a	99.00±1.73 a	98.67±1.53 a
4	35	0.1	3	93.00±3.00 ab	91.67±1.53 b	90.33±3.21 b	91.33±4.04 ab
5	35	0.3	6	97.67±1.53 ab	96.67±3.06 ab	96.33±4.93 a	99.00±1.00 a
6	35	0.5	1	68.00±2.65 e	69.33±2.08 d	67.33±1.53 e	71.33±0.41 de
7	40	0.1	6	98.67±1.15 a	94.33±4.93 ab	97.00±2.00 a	94.33±2.52 ab
8	40	0.3	1	67.00±3.61 e	77.00±4.58 c	82.67±6.43 c	74.33±2.52 d
9	40	0.5	3	81.67±1.15 d	100.00±0.00 a	75.00±4.00 d	83.33±3.21 c

表 9 通关藤种子质量检验方法

Table 9 Quality testing methods of *M. tenacissima* seeds

检验项目	检验方法
扦样	徒手减半法
净度	送验样品 900 g, 试验试样 90 g
真实性	外观形态比较
千粒质量	五百粒法测定千粒质量
发芽条件	发芽前自来水浸种 24 h, 以砂床为发芽床, 30 ℃光照培养, 计数时间为 1~8 d
含水量	高温恒温烘干法, 于 (133±2) ℃条件下, 恒温烘干 6 h
生活力	采用 TTC 染色法: 室温自来水浸种 12 h, 纵切露出子叶和胚, 0.1% TTC 溶液, 35 ℃染色 3 h

4 讨论

在种子检验中,其质量一般可概括为 2 个方面,一是反映品种品质的纯度和真实性,二是体现播种品质的净度、千粒质量、发芽率、生活力、活力、健康度及水分量等^[14]。在通关藤种子的真实性鉴定中,本研究仅做了其形态特征鉴别研究,然而,仅从种子的外观形态是难于鉴别不同产地不同品种的通关藤种子的优劣,尚待探究其他鉴别方法。对于种子生活力的测定,本实验只针对当年采收的不同

产地的种子进行了 TTC 染色法测定其生活力,而对于采收年限或不同保存方法是否对种子活力会有明确的影响,还有待进一步的研究。

目前,通关藤的药材全部来源于野生,由于通关藤抗肿瘤功效的不断发掘,其市场需求日益扩大,大量的无计划采收和砍伐,生态环境遭到严重破坏,野生资源匮乏。对通关藤进行人工抚育和人工栽培将会成为必然的趋势。通关藤的主要繁殖方式是种子繁殖,但是野生的通关藤植株存在花期长、果实

少且不易采收等问题,故对种子进行质量检验有助于后期播种和栽培苗的培育^[15]。通关藤种子质量是药材质量品质的重要保证,不同产地通关藤种子的生物学特性有一定的差异,在进行质量检验方法建立时,需要考虑种子的代表性。本实验种子均采集于通关藤的主产区云南省的不同县级分布区,能较好地代表生产上通关藤用种的质量。前期已有相关研究人员针对不同产地的通关藤药材做过质量的比较^[16-17],发现广西、云南以及贵州四川等地的通关藤药材的质量有显著差异,其中通关藤药材的有效成分总皂苷及通关藤苷的量差异最为明显,本实验主要集中对云南省的不同产地通关藤种子进行了质量检验,后期将在有条件的情况下尽可能多地采集广西、云南、四川、贵州等地的通关藤种子进行研究,从而丰富品种及来源。由于通关藤药材需要 3~5 年才能入药,对于后期通关藤药材质量标准的研究及划分,以及不同等级的通关藤种子对应的药材质量等研究,都需要后期更长时间的努力。

国家“十一五”期间立项开展了约 100 种常用中药材种子检验方法和规程的研究,目前已有实验对白花蛇舌草^[18]、三七^[19]、水飞蓟^[20]、桔梗^[21]等药用植物的种子质量检验规程做了较为系统的研究。而对于通关藤在内的绝大部分中药材种子却还没有相应的检验标准,无法对市场及栽培中的中药材种子的质量进行有效控制,导致目前中药材的最终质量无法从根源上得到保证。因此,开展更多的中药材种子的检验规程的研究是我国中药材规范种植与生产急需解决的问题。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 邢旺兴,陈 斌,宓鹤鸣,等. 乌骨藤辨考 [J]. 中药材 2003, 26(7): 524-527.
- [3] 周海钧. 中国民族药志 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [4] 肖雪峰,刘 丽,郭巧生,等. 通关藤种子萌发条件的研究 [J]. 中草药, 2015, 46(5): 746-750.
- [5] 肖雪峰,刘 丽,郭巧生,等. 种子引发对 NaCl 胁迫下通关藤种子萌发及幼苗生理特性的影响 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3311-3315.
- [6] Zheng K Y, Zhang G H, Jiang N H, *et al.* Analysis of the transcriptome of *Marsdenia tenacissima* discovers putative polyoxypregnane glycoside biosynthetic genes and genetic markers [J]. *Genomics*, 2014, 104(3): 186-193.
- [7] Li C, Yang S C, Guo Q S, *et al.* Determining the geographical origin of the medicinal plant *Marsdenia tenacissima* with multi-element analysis and data mining techniques [J]. *Chem Intell Lab Syst*, 2014, 15(136): 115-120.
- [8] Li C, Guo Q S, Yang S C, *et al.* Determination of multiple elements in samples of the medicinal plant *Marsdenia tenacissima* and estimation of geographic origin via pattern recognition techniques [J]. *J Nat Med*, 2014, doi: 10.1007/s11418-014-0860-x.
- [9] 马明芳,丁克毅,丁立生,等. 通关藤的化学成分 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 183-186.
- [10] 白 爽,李奕诺,徐 鑫,等. 通关藤化学成分及药理活性研究进展 [J]. 解放军药学报, 2015, 31(3): 260-264.
- [11] 陈 兵,李翠萍,欧阳健,等. 通关藤提取物体外对人正常免疫细胞及干细胞的影响 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(10): 887-890.
- [12] 农作物种子检验规程 [S]. GB/T 3543-1995, 1999.
- [13] 国际种子检验规程 [S]. 1996.
- [14] 李秀凤,葛淑俊,王静华. 药用植物种子标准化研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 附 4-附 6.
- [15] 严一字,吴基日. 桔梗种子质量对发芽、出苗及苗素质的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1726-1729.
- [16] 何 俊,王 曙,严晓梁. 不同产地的通光藤中总皂苷含量的比较 [J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(2): 201-202.
- [17] 陈 强,毛春琴,陆兔林,等. 不同产地通关藤药材中总皂苷与通关藤苷 B 的含量比较 [J]. 医药导报, 2009(12): 1615-1617.
- [18] 卢魏魏,朱再标,郭巧生,等. 白花蛇舌草种子质量检验方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10): 1366-1371.
- [19] 张 蕊,孙卫邦. 三七种子质量检验规程研究 [J]. 种子检验, 2012, 31(3): 119-122.
- [20] 张爱霞,陈 叶,祁林强,等. 水飞蓟种子质量检验方法研究 [J]. 中草药, 2015, 46(4): 580-583.
- [21] 杨成民,张 争,魏建和,等. 桔梗种子质量分级标准研究 [J]. 中药材, 2012, 35(5): 679-682.