

川产道地药材附子种根检验规程及分级标准研究

司欣鑫^{1,2}, 张朝晖⁴, 张林³, 胡平², 周先建², 吴萍², 夏燕莉³, 李壮^{2*}

(1. 四川农业大学, 成都 611134; 2. 四川省中医药科学院, 成都 610041; 3. 成都大学, 成都 610106; 4. 四川广播电视大学农林卫生学院, 成都 610073)

摘要:[目的]为保障附子种根的质量, 研究建立川产附子种根的质量检验规程及分级标准。[方法]通过对附子种根真实性、净度、含水量、发芽率、病株率和百个重等6项指标进行研究, 建立川产附子种根的质量检验规程。对30份附子种根进行检测, 利用K-均值聚类方法制定附子种根的分级标准。[结果]含水量、发芽率为附子种根的主要分级标准, 净度、病株率、百个重为次要分级标准。将附子种根分成3个等级: 一级种根, 发芽率 $\geq 70\%$, 含水量65%~70%, 净度 $\geq 90\%$, 百个重1 100~1 500 g, 病株率 $\leq 4.5\%$; 二级种根, 发芽率 $\geq 70\%$, 含水量65%~70%, 净度 $\geq 90\%$, 百个重900~1 099 g, 病株率 $\leq 4.5\%$; 三级种根, 发芽率 $\geq 60\%$, 含水量71%~75%, 净度 $\geq 85\%$, 百个重600~899 g, 病株率 $\leq 4.5\%$ 。[结论]本研究在大量的实验数据下, 建立了附子种根的检验规程并制定了分级标准。

关键词: 附子; 种根; 质量检验规程; 分级标准

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1891(2019)01-0001-05

A Study on the Testing Procedure and Grading Criteria for Seedling Root Quality of *Aconitum Carmichaelii* Debx. Produced in Sichuan Province

SI Xinxin^{1,2}, ZHANG Zhaohui⁴, ZHANG Lin³, HU Ping², ZHOU Xianjian², WU Ping², XIA Yanli³, LI Zhuang^{2*}

(1. Sichuan Agricultural University, Chengdu 611134, China; 2. Sichuan Academy of Traditional Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China; 3. Chengdu University, Chengdu 610106, China; 4. Sichuan Radio and TV University, Chengdu 610073, China)

Abstract: [Objective] To guarantee the root quality of Aconite and to create a quality testing procedure and grading criteria for the roots of Aconite in Sichuan. [Method] Through studies of the six indicators of aconite root authenticity, purity, water content, germination rate, disease rate and weight of 100 units to establish the quality testing procedure for the roots of Aconite; through tests of 30 aconite roots and adoption of the K-means clustering method to establish the grading criteria for aconite roots. [Results] Water content and germination rate are major grading criteria for aconite roots; purity, disease rate and weight of 100 units are secondary grading criteria. The aconite roots are graded in three categories: first-grade root has germination rate $\geq 70\%$, water content of 65%–70%, purity $\geq 90\%$, hundred units weight of 1 100–1 500 g, and diseased plant rate $\leq 4.5\%$; second-grade root has germination rate $\geq 70\%$, water content of 65%–70%, purity $\geq 90\%$, hundred units weight of 900–1 099 g, and diseased plant rate $\leq 4.5\%$; third-grade seedling has germination rate $\geq 60\%$, water content of 71%–75%, purity $\geq 85\%$, hundred units weight of 600–899 g, and diseased plant rate $\leq 4.5\%$. [Conclusion] In this study, a lot of experimental data were used to establish the rules for the root examination of *Aconitum carmichaelii* Debx. and to establish classification standards.

Keywords: *Aconitum carmichaelii* Debx.; seedling root; quality testing procedure; grading criteria

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx 的子根加工品, 具有很好的强心作用, 为回阳救逆要药, 被列为药中四维, 亦为著名的川产道地药材, 四川江油种植附子已有 1 900 多年的历史, 自

收稿日期: 2019-01-15

基金项目: 国家重点研发计划(SQ2017YFC170327、2017YFC1701802、2017YFC1700700); 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-ZY-45); 四川省科技厅育种攻关项目(2016NYZ0036); 四川省科技厅科技支撑计划(2015SZ0034); 四川省科技厅科技扶贫计划(2018NFP0053); 四川省中医药管理局项目(Z-2018N-3-7、2016Z011)。

作者简介: 司欣鑫(1994—), 男, 河南郑州人, 硕士研究生, 研究方向: 中药材遗传育种。*为通信作者。

古被誉为“附子之乡”^[1-2]。附子为栽培品种,以种根繁育为主,种根的优劣直接影响其药材的质量和产量,但川产附子还未建立相应的种根检验规程和质量分级标准,无法对市场上的种根进行检验,而种根质量良莠不齐,造成了种根市场混乱,严重影响了附子产业的发展及其药材质量的稳定。本研究通过对附子种根的真实性、净度、含水量、发病率、病株率和百个重等主要品质检验指标研究,制定附子种根的质量检验规程和分级标准,以期为附子种根的品质检验提供依据,为附子的规范化栽培提供参考^[3-5]。

1 材料

实验共收集附子种根 10 个批次,每个批次种根采集 3 份且采集距离 > 2 km,分别来自四川省广元市青川茅坝乡茅坝村川和安县茶坪乡白果村不同海拔的附子种根,种根具体信息详见表 1。

表 1 附子种根样品编号及来源

采集地	编号	海拔/m	采集地	编号	海拔/m
青川茅坝乡茅坝村	1	1 050	安县茶坪乡白果村	16	1 050
	2	1 050		17	1 050
	3	1 050		18	1 050
	4	1 150		19	1 150
	5	1 150		20	1 150
	6	1 150		21	1 150
	7	1 250		22	1 250
	8	1 250		23	1 250
	9	1 250		24	1 250
	10	1 350		25	1 350
	11	1 350		26	1 350
	12	1 350		27	1 350
	13	1 450		28	1 450
	14	1 450		29	1 450
	15	1 450		30	1 450

2 方法

2.1 附子种根真实性鉴定

通过观察,从附子种根的表面特征、质地、纵剖面、气味等方面对附子种根进行外观的真实性鉴定。

2.2 形态鉴定

通过对多批次样品进行全面观察,附子种根的形态鉴定从种根形状、芽体的有无、芽体饱满度、芽体是否残缺、主根数目、根系是否健壮等方面进行。

2.3 种根净度分析

测定 10 个批次样品,每个批次 3 个重复,随机

抽取每个样品质量 500 g,分选出杂质、废种根及其他异类种根,分离出干净种根,计算种根净度,计算重复间变异系数,并用 DPS 软件进行变异系数 Bennett 检验。

种根净度(%)=(试样重量 - 废种根重量 - 夹杂物重量)/试样重量×100%

2.4 种根百个重分析

测定 10 个批次样品,每个批次 3 个重复,每个样品从干净种根中随机抽取 100 个附子种根,计算百个重。

2.5 种根健康检查

测定 10 个批次样品,每个批次 3 个重复,每个重复抽取 100 个附子种根。用肉眼或借助放大镜、双目显微镜直接对种根病害和虫害进行检验。记录病害和虫害数。

2.6 种根水分测定

以 5 号材料进行实验,切为约 5 ~ 8 mm 厚的薄片,烘箱温度 140 ℃,设置烘干时间为 3、4、4.5、5、5.5 h 几个梯度,每个梯度重复 3 次,随机抽取干净种根,每份样品称量 160 g 左右,每个梯度的烘干时间到达后取出放在干燥器中冷却至室温,分别称重。

2.7 种根发芽率测定方法研究

2.7.1 发芽温度试验

分别设置 20、25、30 ℃ 三个处理,置于人工气候箱中,0.75 ~ 1.25 klx 光照 8 h、黑暗 16 h 培养。处理时以塑料篮筐为容器,以细沙作发芽床,种根埋藏于沙中,保持发芽床湿润。每个处理设 3 个重复,每个重复 50 个种根。

隔天调查发芽数,计算发芽率。

发芽率(%)=发芽的种根数/供试种根数×100%

2.7.2 发芽光照试验

分别设置黑暗培养和 0.75 ~ 1.25 klx 光照 8 h、黑暗 16 h 培养两个处理方式。处理时以塑料篮筐为容器,以细沙作发芽床,种根埋藏于沙中,保持发芽床湿润,置于 30 ℃ 人工气候箱中。每个处理设 3 个重复,每个重复 50 个种根。

隔天调查发芽数,计算发芽率。

发芽率(%)=发芽的种根数/供试种根数×100%

2.7.3 发芽率变异系数容许范围研究

以塑料篮筐为容器,以细沙作发芽床,种根埋藏于沙中,保持发芽床湿润,置于 30 ℃ 人工气候箱中,黑暗培养。每个处理设 3 个重复,每个重复 50 个种根。

隔天调查发芽数,计算发芽率。

发芽率(%)=发芽的种根数/供试种根数×100%

3 结果与分析

3.1 附子种根真实性鉴定

附子种根真实性鉴定实验结果表明:附子种根表面茶褐色至深褐色,平滑,质坚硬,切面黄白色或淡黄棕色,中心颜色较深;气香,味微苦、辛,有清凉感。

3.2 形态鉴定

附子种根形态鉴定实验结果表明:附子种根多呈纺锤状或倒卵形,略弯曲,顶端宽大,上身肥满,周围生有瘤状隆起的分支;芽体饱满、紧包、无损,未萌发或稍萌发;主根3条以上,下部有细小须根,根系健壮。

3.3 种根净度

本试验10个批次样品种根净度平均值为88.55%~98.03%,重复间的变异系数0.28%~3.09%,Bennett检验 $P=0.51>0.05$,差异未达显著水平,见表2—3。

表2 不同批次附子种根净度及变异系数测定结果

材料编号	净度平均值/%	SD	CV
1	98.03	1.33	1.35
2	94.23	1.47	1.56
3	96.70	1.13	1.17
4	92.53	0.67	0.72
5	96.28	1.06	1.10
6	88.55	2.74	3.09
7	95.49	1.84	1.93
8	95.78	2.20	2.30
9	93.50	1.88	2.01
10	94.32	0.26	0.28

表3 不同批次附子种根净度变异系数Bennett检验

Tests for CVs	χ -square	DF	P-value
Bennett检验	5.30	6.00	0.51
校正Bennett检验	5.30	6.00	0.51

表4 不同批次附子种根百个重及变异系数测定结果

材料编号	百个重平均值/g	SD	CV
1	916.30	43.74	4.77
2	1 174.73	56.28	4.79
3	1 132.93	41.53	3.67
4	338.40	10.57	3.12
5	1 424.87	58.62	4.11
6	947.47	49.91	5.27
7	611.83	36.26	5.93
8	937.23	5.25	0.56
9	932.67	3.58	0.38
10	935.80	1.21	0.13

3.4 种根百个重

本试验10个批次样品种根百个重平均值为338.40~1 424.87 g,重复间的变异系数0.13%~5.93%,Bennett检验 $P=0.98>0.05$,差异未达显著水平,见表4~5。

表5 不同批次附子种根百个重变异系数Bennett检验

Tests for CVs	χ -square	DF	P-value
Bennett检验	1.09	6.00	0.98
校正Bennett检验	1.09	6.00	0.98

3.5 种根健康检查

附子种根样品中未发现虫害发生,偶见根腐病发生。种根表皮变软、黑色、水浸状,发生率低于5%。这些种根均不能作为繁殖材料使用,否则易导致病害扩散,故在检验时应注意鉴别。

3.6 种根水分测定

实验结果表明,烘干至5.5 h时,附子种根重量与烘干5 h的重量几乎无变化,因此,确定5 h为最佳的烘干时间。

本实验10个批次样品种根含水率平均值为58.10%~72.64%,重复间的变异系数0.37%~1.58%,Bennett检验 $P=0.232>0.05$,材料之间含水率变异系数差异不显著,见表6~7。

表6 附子种根含水率及变异系数测定结果

材料编号	含水率平均值/%	SD	CV
1	60.20	0.22	0.37
2	66.51	0.29	0.44
3	65.62	0.34	0.52
4	58.10	0.23	0.39
5	67.87	0.79	1.17
6	71.30	0.73	1.02
7	72.64	1.15	1.58
8	66.39	1.14	1.72
9	66.59	1.16	1.74
10	65.09	0.65	0.10

表7 附子种根百粒重变异系数Bennett检验

Tests for CVs	χ -square	DF	P-value
Bennett检验	8.08	6.00	0.23
校正Bennett检验	8.08	6.00	0.23

3.7 种根发芽率测定方法研究

3.7.1 发芽温度试验

3.7.1.1 发芽率测定结果分析

3个重复不同发芽温度种根发芽率方差分析结果表明,见表8,不同发芽温度处理间差异极显著($F=32.121, P=0.0006<0.01$)。多重比较结果表明:

30℃的终发芽率为75%，极显著高于20℃、25℃的发芽率(分别为39.58%、37.50%)，20℃和25℃差异不显著(表9)。

表8 不同发芽温度种根发芽率方差分析表

变异来源	平方和	自由度	均方	均方	F值	P值
处理间	957.5013	2	478.7506	478.7506	32.121	0.0006
处理内	89.4279	6	14.9046	14.9046		
总变异	1046.9291	8				

表9 不同发芽温度种根发芽率多重比较分析结果

光照条件/℃	发芽率/%				5%显著水平	1%极显著水平
	I	II	III	平均值		
20	45.83	33.33	39.58	39.58	a	A
25	37.50	37.50	37.50	37.50	b	B
30	66.67	83.33	75.00	75.00	c	B

3.7.7.2 动态发芽率测定结果分析

发芽动态试验结果表明，附子种根从第3天开始发芽，第9天可见真叶，到第50天完成发芽，见表10。其中，30℃发芽速度最快，在第9天时即已经达到50%，之后持续增加，直到第47天达到最高。20℃、25℃发芽速度其次，在第9天时为20%，之后持续增加，到第23、25天即不再增加。

表10 不同发芽温度种根动态发芽率

天数/d	温度/℃			天数/d	温度/℃		
	20	25	30		20	25	30
3	10.42	10.42	25.00	23	27.08	37.50	64.58
5	16.67	10.42	29.17	25	39.58	37.50	68.75
7	16.67	16.67	45.83	28	39.58	37.50	72.92
9	20.83	20.83	50.00	32	39.58	37.50	92.92
11	20.83	27.08	50.00	34	39.58	37.50	72.92
13	22.92	27.08	50.00	39	39.58	37.50	72.92
15	25.00	35.42	50.00	41	39.58	37.50	72.92
17	25.00	35.42	50.00	43	39.58	37.50	72.92
19	25.00	35.42	62.50	47	39.58	37.50	75.00
21	27.08	35.42	62.50	50	39.58	37.50	75.00

3.7.2 发芽光照试验

3个重复不同发芽光照种根发芽率方差分析结果表明：不同发芽光照处理间差异极显著($F=38.618, P=0.0034 < 0.01$)(表11)。发芽率多重比较

表11 不同发芽光照种根发芽率方差分析表

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
处理间	612.3831	1	612.3831	38.618	0.0034
处理内	63.4297	4	15.8574		
总变异	675.8128	5			

结果表明：光照的终发芽率为75.32%，极显著高于黑暗(41.33%)(表12)。

表12 不同发芽光照度种根发芽率多重比较分析结果

光照条件	发芽率/%				5%显著水平	1%极显著水平
	I	II	III	平均值		
光照	66.67	83.33	75	75.32	a	A
黑暗	42.35	39.96	41.69	41.33	b	B

3.7.3 发芽率变异系数容许范围研究

本试验10个批次样品种根发芽率平均值为56.67%~86.67%，重复间的变异系数0.04%~3.95%，Bennett检验 $P=0.0755 > 0.05$ ，差异未达显著水平，见表13~14。

表13 不同批次附子种根发芽率及变异系数测定结果

材料编号	发芽率平均值/%	SD	CV
1	56.67	16.67	0.29
2	75.00	8.33	0.11
3	83.33	10.00	0.12
4	79.45	3.14	3.95
5	83.33	3.34	0.04
6	63.33	3.34	0.05
7	86.67	6.67	0.08
8	75.00	0.32	0.43
9	75.57	1.08	1.43
10	75.67	2.45	3.24

表14 不同批次附子种根发芽率变异系数Bennett检验

Tests for CVs	χ^2 -square	DF	P-value
Bennett检验	9.99	5.00	0.08
校正Bennett检验	10.15	5.00	0.07

3.8 质量分级标准制定

根据系统聚类的类平均法原理，采用SPSS 17.0分析软件中的K-均值聚类对附子种根的净度、百个重、含水量、发芽率和病株率等5项指标进行聚类分析的最终类中心值，见表15。

表15 K-均值聚类分析的最终类中心值

级别	净度/%	含水量/%	发芽率/%	病株率/%	百个重/g
一级	≥90	65~70	≥70	≤4.5	1100~1500
二级	≥90	65~70	≥70	≥4.5	900~1099
三级	≥85	71~75	≥60	≥4.5	600~899

以附子种根的净度、百个重、含水量、发芽率和病株率5项指标进行聚类分析的最终类中心值作为附子种根分级标准的参考值，结合生产实际和可操作性，在聚类中心值的基础上制定了附子种根的质量分级标准，见表16。

表16 附子种根质量分级标准

级别	净度/%	含水量/%	发芽率/%	病株率/%	百粒重/g
一级	≥90	65~70	≥70	≤4.5	1 100~1 500
二级	≥90	65~70	≥70	≤4.5	900~1 099
三级	≥85	71~75	≥60	≤4.5	600~899

4 结论与讨论

由于药用植物的种类繁多,种子种根差别很大,虽然前人对云木香、欧李等多种药用植物种子进行了质量检验规程及分级标准研究。但是,到目前为止,对于附子种根的质量检验规程和分级标准尚未有系统的研究^[6-8]。参照前人的研究,本研究制定了附子种根的质量分级标准,通过对不同产区不同海拔的30份附子种根的净度、百个重、含水量、发芽率和病株率5个指标的测定,并利用K-均值聚类分析确定含水量、发芽率为附子种根的主要分级标准指标,净度是种根收购的主要指标,百个重是反映种根的长势和成熟度,病株率是判定种根质量的重要指标,所以三者可以作为附子种根质量分级的参考标准。

本实验从青川茅坝乡张家坝安县茶坪乡白果村产区收集不同海拔的附子种根30份,挑选其10份研究附子种根的质量检测方法,并制定其检验标

准。其中真实性鉴定结果为附子种根表面茶褐色至深褐色,平滑,质坚硬,切面黄白色或淡黄棕色,中心颜色较深;气香,味微苦、辛,有清凉感;形态鉴定结果为附子种根多呈纺锤状或倒卵形,略弯曲,顶端宽大,上身肥满,周围生有瘤状隆起的分支;芽体饱满、紧包、无损,未萌发或稍萌发;主根3条以上,下部有细小须根,根系健壮,附子种根净度重复间的变异系数小于3.5%,种根净度重复间的变异系数小于6%,种根含水率重复间的变异系数小于2%,种根发芽率重复间的变异系数小于1%。附子种根的最佳发芽温度为30℃,最适光照度为0.75~1.25 klx,最佳烘干时间为5 h,其发芽率最高、发芽最快。

目前,附子种根还没有相应的检验规程和质量分级标准。而不同种源的附子种根性状差异较大,发芽率最高为93.33%,最低为40.00%;百个重最大值为1 492.25 g,最低值为332.40 g;净度最高值为99.06%,最低值为85.82%;含水率最高值为72.05%,最低值为57.89%;病株率最大值,4.6%,最低值为3.1%。因此建立健全附子种根的质量检验规程和分级标准非常重要,本研究在大量的实验数据下,建立了附子种根的检验规程并制定了分级标准。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 191-192.
- [2] 雷崎方, 孙桂波, 沈寿茂. 附子的化学成分研究[J]. 中草药, 2013, 44(6): 655-659.
- [3] 吴克红, 唐力英, 王祝举. 附子的化学和生物活性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 212-220.
- [4] 陈荣昌, 孙桂波, 张强. 附子及其复方中药的药理作用研究进展[J]. 中草药, 2014, 45(6): 883-888.
- [5] 夏燕莉, 胡平, 张美. 附子优良品种选育及生物学特性研究[J]. 种子, 2009, 28(2): 85-89.
- [6] 颜升, 王晓云, 董艳凯. 栀子种子检验规程研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 248-252.
- [7] 管燕红, 王艳芳, 唐玲. 云木香种子质量检验规程及分级标准研究[J]. 中药材, 2017, 40(8): 1763-1769.
- [8] 文浩, 任广喜, 高雅. 欧李种子质量检验规程及分级标准研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(21): 4191-4196.

(责任编辑: 蒋召雪)