



牛膝种子质量研究

祁建军, 李先恩*, 周丽莉, 孙鹏

(中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的:分析不同来源牛膝种子质量,初步制定牛膝种子质量分级标准。方法:种子重测定应用百粒重法,双层滤纸法测定了种子发芽率,高温烘干法测定了种子水分含量,种子净度分析采用 GB/T3543.3——“农作物种子检验规程”执行。对8份通过初步分级的牛膝种子设计了田间试验小区种植。结果:33份牛膝种子的千粒重在0.69~3.54 g,变异系数24.83%;发芽率在19.02%~99%,变异系数38.24%;种子水分含量和净度变异较小。聚类分析表明,对牛膝种子分级影响最主要的是种子发芽率,并将33份种子分为三级,一级23份,二级和三级各5份。8份不同级别种子田间植株生长及产量性状表现明显差异。结论:牛膝种子质量差异较大,对药材市场的种子进行分级管理很有必要,种植前进行简单的发芽率测定是进行生产管理的有效方法。

[关键词] 牛膝;种子;质量

牛膝 *Achyranthes bidentata* Blume 为苋科多年生草本植物,又称怀牛膝、对节草等,以干燥肉质根入药,因其主产于河南省古怀庆府(今焦作市),故称怀牛膝,是驰名中外的“四大怀药”之一。牛膝药材为牛膝干燥根,以根条粗长、肉肥、皮细和灰黄色者为佳,有补肝肾,强筋骨,逐瘀通经,引血下行之功效。现代药理学研究认为牛膝具有降血糖、降血压、抗衰老、以及抗肿瘤和增强免疫等多种作用。生产上牛膝以种子繁殖,种子的优劣直接影响药材的质量和产量。牛膝种子没有休眠特性,活力较高,容易发芽,且发芽率较高。在地温20℃左右,土壤湿度适宜条件下播种,7~10 d可出齐苗。当年生的种子叫“蔓蔓子”,生产上几乎不用“蔓蔓子”作种。一般用二年生牛膝种子,又称“秋子”进行播种,发芽率高,长势较好且容易控制。但是“秋子”的繁殖需要消耗药材和占用大面积土地为制种田,因此经常有人将“蔓蔓子”当作“秋子”用,而种子质量的好坏会直接影响牛膝药材的质量,本研究的目的是对不同来源(药材市场,农户收集)的牛膝种子从净度、千粒重、发芽率、田间生产性状等几方面进行研究,分析不同来源种子质量,并提出初步的种子分级标准,可作为牛膝种子质量评价的依据。

1 材料

本研究所用牛膝种子共33份,分别来自北京药用植物研究所(样品编号以字母B开头)、河北安国(AG1, AG2),安徽亳州(BZ1, BZ2, BZ3),河南温县、河南武陟等地(样品编号以H开头),经鉴定为苋科植物怀牛膝 *A. bidentata* 种子,种子收集时间为2010年4月。其中,河北安国和安徽亳州的种子均从药材市场不同商户购买,而河南温县和武陟从不同药农收集。样品编号及详细信息见表1。

2 方法

2.1 牛膝种子质量测定与发芽率 按照百粒法测定种子千粒重;发芽率测定,在15 cm培养皿上铺双层滤纸作为发芽床,每个培养皿为1个重复,放100粒种子,每份种子3个重复,25℃黑暗条件培养箱保温,第5天开始记录发芽种子数。

2.2 种子净度及水分分析 净度分析按照 GB/T3543.3——“农作物种子检验规程”净度分析执行。含水量分析采用高温烘干法,参考淡红梅等方法^[1]。

2.3 牛膝种子的田间种植试验 分别在河南武陟大封乡驾部村和北京中国医学科学院药用植物研究所实验田设置田间试验。采用随机区组试验设计选用8份牛膝种子(一级2份,二级2份,三级4份),设置24个田间小区,每份种子有3个重复,小区面积为6 m²(2 m×3 m)。2010年7月17—18日播种,11月10日收获。田间观察记录出苗、开花、株高等,收获时产量性状记录根长、根粗、根重等。产

[稿件编号] 20110325001

[基金项目] 国家科技重大专项(2009ZX09308-002)

[通信作者] * 李先恩, Tel: (010) 62810019, E-mail: xeli@imp-lad.ac.cn



量性状记录采用各小区单株取样,每小区取样数50株,分别测量株高、根长和粗、鲜根重,计算平均数作为一个小区的记录。

3 结果与分析

3.1 牛膝种子千粒重、净度、发芽率与含水量 33份牛膝种子净度、发芽率、千粒重和水分含量见表1。种子的净度为74.27%~96.02%,变异系数5.92%;发芽率19.02%~99%,变异系数38.24%;千粒重0.69~3.54g,变异系数24.83%;含水量9.71%~13.81%,变异系数8.45%。发芽率和千粒重的变异较大,说明这2个指标是影响种子质量分级的重要参数。

表1 33份种子检验

No.	样品来源	净度 /%	发芽率 /%	千粒重 /g	水分 /%
HWD1	河南	77.43	96.0	3.30	13.05
HWD2	河南	83.94	94.0	2.19	12.34
HWD3	河南	84.34	99.0	3.54	11.94
HWD4	河南	94.77	98.0	2.37	12.27
HWD5	河南	96.02	96.5	2.28	13.68
HWD6	河南	91.70	96.0	2.58	9.71
HWD7	河南	90.71	98.0	2.59	12.68
HWD8	河南	78.17	98.0	2.02	13.81
HWN1	河南	84.65	99.0	1.96	11.82
HWN2	河南	74.27	87.5	1.59	10.82
HWN3	河南	87.46	94.5	2.13	11.35
HWN4	河南	90.14	95.5	2.29	10.79
HWB	河南	75.00	19.5	1.64	10.40
HWX1	河南	91.21	86.24	2.78	10.29
HWX2	河南	92.52	90.31	2.86	11.76
HWZ	河南	89.89	66.78	2.21	12.07
BY1	北京	86.72	98.0	2.84	11.89
BY2	北京	91.36	98.5	2.86	12.34
BY3	北京	89.78	94.5	2.69	11.56
BY4	北京	92.34	96.0	2.83	11.79
BY5	北京	91.35	97.5	2.83	12.31
BY6	北京	94.14	92.5	2.95	10.95
BY7	北京	89.46	96.5	2.96	13.01
BY8	北京	88.37	92.0	2.87	11.49
BY9	北京	86.31	86.5	2.81	11.82
BY10	北京	87.98	50.5	1.37	10.73
BY11	北京	90.04	31.5	0.69	10.32
BY12	北京	90.36	46.0	1.65	10.85
AG1	河北	86.87	19.02	2.72	10.25
AG2	河北	90.14	20.14	2.68	11.43
BZ1	安徽	87.56	23.56	2.04	12.36
BZ2	安徽	88.21	42.25	3.18	11.41
BZ3	安徽	85.32	31.26	3.15	12.23

3.2 牛膝种子质量分类 应用SPSS 11.5统计软件中K-均值聚类法,设置3个分类等级,对种子净度、发芽率、千粒重和水分进行了聚类分析。方差分析表明,种子净度、千粒重和水分含量在4个类中没有差别,只有发芽率呈现出差异,这说明对聚类结果起作用的只有发芽率。但是,考虑到种子净度是保证种子质量的重要指标,以及牛膝种子千粒重本身的差异,在制定牛膝种子质量标准时仍然采用了发芽率、净度和千粒重这3个指标,见图1。根据聚类分析和药材生产实际,可以确定牛膝种子的分级标准为:发芽率 $\geq 86\%$,净度 $\geq 91\%$,这2个指标同时符合即为一级种子;发芽率 $\geq 42\%$,净度 $\geq 84\%$,同时符合即为二级种子;不符合上述两级标准即为三级种子,三级种子没有利用价值。千粒重可作为种子分级标准的参考数据,见表2,3。

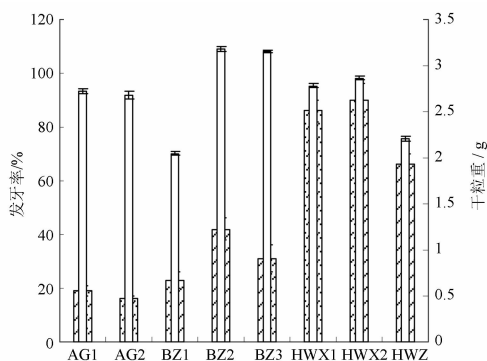


图1 8份牛膝种子的千粒重(空心柱)和发芽率(阴影柱)比较

表2 牛膝种子分级标准

等级	发芽率/%	净度/%	千粒重/g
1	≥ 86	≥ 91	≥ 2.58
2	≥ 42	≥ 84	≥ 1.96
3	< 42	< 84	< 1.96

表3 牛膝种子质量分析

等级	K-聚类分析			33份检测的牛膝种子 分级情况(样本数)
	发芽率/%	净度/%	千粒重/g	
1	≥ 86.24	≥ 90.71	≥ 2.58	23
2	≥ 42.25	≥ 83.94	≥ 1.96	5
3	< 42.25	< 83.94	< 1.96	5

3.3 田间观察及产量性状 选用8份千粒重没有显著差异而发芽率不同的牛膝种子进行田间种植试



验,见图1。从田间出苗率来看,HWX1,HWX2在田间的出苗率都大于80%;HWZ的出苗率大于60%;AG1,AG2,BZ1,BZ2,BZ3的出苗率极低(10%~20%),相比较看AG1,AG2的出苗率高于BZ1,BZ2,BZ3。

牛膝种子播种到出苗约40d左右地上部分出现明显差异。HWX1,HWX2,HWZ的植株高度

30~40cm,而AG1,AG2,BZ1,BZ2和BZ3的植株高度为10~20cm,见表4。同时,HWX1,HWX2和HWZ的植株顶端未出现花序发育,而AG1,AG2,BZ1,BZ2,BZ3出现明显的花序和结籽现象。表4中植株高度为收获时测量值,可见HWX1,HWX2,HWZ的植株高度在67.96~70.50cm,显著高于AG1,AG2,BZ1,BZ2,BZ3(40.53~46.42cm)。

表4 不同来源牛膝种子田间种植产量性状($\bar{x} \pm s, n = 50$)

No.	种植地	根长/cm	根粗/cm	根鲜重/g	根干重/g	植株高/cm
AG1	HN	36.78 ± 1.88a	0.85 ± 0.06b	21.90 ± 0.15b	6.78 ± 0.28c	42.09 ± 3.39b
	BJ	32.58 ± 1.36b	0.81 ± 0.10b	25.59 ± 4.46b	7.93 ± 1.34c	46.42 ± 4.90b
AG2	HN	36.01 ± 3.71a	0.78 ± 0.05b	19.92 ± 5.08c	6.60 ± 1.82c	43.41 ± 2.78b
	BJ	31.36 ± 0.88b	0.82 ± 0.04b	31.14 ± 2.20b	9.34 ± 2.07b	44.93 ± 3.11b
BZ1	HN	33.85 ± 1.85a	0.73 ± 0.07b	21.06 ± 3.18b	6.57 ± 0.86c	44.00 ± 2.34b
	BJ	33.01 ± 0.07b	0.98 ± 0.04a	51.89 ± 9.36a	15.56 ± 2.26a	46.42 ± 1.39b
BZ2	HN	33.78 ± 1.47a	0.82 ± 0.11b	20.58 ± 5.02c	5.26 ± 0.55c	43.60 ± 3.55b
	BJ	31.28 ± 2.36b	0.84 ± 0.08b	30.32 ± 3.68b	9.15 ± 1.38b	42.56 ± 2.57b
BZ3	HN	35.27 ± 1.39a	0.83 ± 0.06b	21.87 ± 6.34b	6.77 ± 1.68c	40.53 ± 1.48b
	BJ	30.63 ± 2.34b	0.78 ± 0.11b	32.52 ± 4.23b	9.71 ± 1.46b	46.25 ± 2.41b
HWX1	HN	36.84 ± 1.26a	0.90 ± 0.04a	28.25 ± 5.97b	9.24 ± 2.23b	68.19 ± 2.97a
	BJ	39.48 ± 3.67a	1.05 ± 0.06a	35.15 ± 6.14b	10.91 ± 1.17b	70.06 ± 5.72a
HWX2	HN	37.83 ± 2.31a	0.94 ± 0.06a	26.02 ± 3.75b	8.01 ± 0.86b	68.26 ± 6.23a
	BJ	35.70 ± 2.12a	1.12 ± 0.09a	30.91 ± 0.85b	9.90 ± 0.97b	70.50 ± 7.80a
HWZ	HN	38.28 ± 1.24a	0.86 ± 0.02ab	19.10 ± 2.95c	6.57 ± 1.31b	67.96 ± 2.34a
	BJ	36.84 ± 2.15a	0.98 ± 0.06a	33.41 ± 2.58b	10.28 ± 1.27b	69.47 ± 3.65a

注:HN. 在河南武陟种植,BJ. 在北京种植;同一列数字后小写字母表示在0.05水平上的显著性差异。

不同来源牛膝种子种植后的药材产量性状见表4。根的长度上,河南产地根的长度显著比北京种植的要长,而不同来源样品之间根的长度没有显著差异;而在根的粗度上,除在北京种植的BZ1外,HWX1,HWX2,HWZ比AG1,AG2,BZ1,BZ2,BZ3粗;北京产地的牛膝根产量,在鲜重和干重上均明显比河南产地高;而不同来源种子的产量差异上则没有明显的规律。在根系的外观上,2个产地均有一致的表现,河北安国和安徽亳州的牛膝种子产出的牛膝根系分叉多,而来自河南的牛膝分叉很少。

4 讨论

牛膝种子质量是药材质量品质的重要保证。本研究表明牛膝种子质量差异较大,特别是进入市场销售的种子质量优劣不齐。在牛膝种子质量检验中,发芽率和净度分析可作为主要的参数。造成牛膝种子质量差异较大的原因可从2个方面寻找:一是种子来源。传统的怀牛膝产地河南焦作地区,一般以农户自繁自种为主,种子质量较好。如李娜等

从种子千粒重、含水量、电导率等方面研究了牛膝种子的质量,认为河南博爱和河北安国2个产地的牛膝种子质量较优^[2]。而在药材种子市场上流通量较大的牛膝种子大多来自新兴产地,比如内蒙古赤峰、河北安国附近。二是种子的繁殖方式。“秋子”和“蔓蔓子”即为2种不同的繁殖方式产生的牛膝种子。“秋子”是在当年生的牛膝收获时选择植株高矮适度,枝密叶园,叶片肥大,根部粗大,表皮光滑,无分叉须根少的植株,取芦头下20~25cm根储藏越冬后,第2年春天种植,秋后采收种子即为“秋子”^[3]。“蔓蔓子”即为当年生植物在药材收获前采集的种子,比较容易获得,产量大。“秋子”的生产需要选优、储藏越冬、移栽等过程,特别是存在一个选优和生长期延长的过程,因此其种植后在田间的表现为植株生长整齐、植株高度高、花序发育晚、根系分叉少而粗壮。但是,由于“秋子”生产耗时耗力,占用额外的农田,其产量一般不大,多为自繁自用,这就为“蔓蔓子”流入市场提供了机会。从本研



究选用的几种牛膝种子田间种植表现来看,来自河北安国和安徽亳州的牛膝种子即可能为“蔓蔓子”。张红瑞的研究表明,不同繁殖类型牛膝在田间生长发育上存在明显不同,“秋子”优于“蔓蔓子”^[4]。

药材生产和农作物生产最大的不同是质量重于产量。一般来说,种子千粒重和种子质量有正相关关系,但是,从图1可以看出,千粒重差别不大的情况下,牛膝种子发芽率存在极显著的差异。这说明牛膝种子千粒重在种子分级中占次要因素,这一点也在利用K-均值聚类的方差分析中得到验证。因此,本研究认为,牛膝种子分级以种子发芽率和净度为主要指标,不同级别种子的田间试验进一步验证了这一结果。从表4中看出牛膝的产量差别很大,北京产地的牛膝产量普遍高于河南产地,原因可能有2个:一是气候条件差异,种植当年河南出现多雨、低温等气象条件严重影响了田间作物产量;二是北京种植地为新茬土壤,而河南为道地产区,土壤连年种植牛膝,可能存在的连作问题影响产量。另外,从表4还可以看出,一级种子HWX1,HWX2,二级种子HWZ,BZ2及三级种子BZ1,BZ3,AG1,AG2,在单株产量上没有显著差异,甚至BZ1的产量最高。这是因为表4中的产量数据均为单株产量,而AG1,

AG2,BZ1,BZ2,BZ3的田间出苗率只有10%~20%,其总产量非常低。另外,虽然AG1,AG2,BZ1,BZ2,BZ3的种子质量低,但其根系分叉多,表现在单株质量反而很高,可是其产出的药材大多为二等(二肥)或三等(杂条),而HWX1,HWX2,HWZ的根系多为1条主根,多为一级(头肥)商品药材。研究证明,不同的等级的牛膝药材在多糖和齐墩果酸含量上差异较大^[5-6]。因此,从药材的源头——种子质量入手来控制药材质量在牛膝药材生产中显得尤为重要。

[参考文献]

- [1] 淡红梅,祁建军,周丽莉,等. 丹参种子质量检验方法的研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(17):2090.
- [2] 李娜,邵爱娟,袁媛,等. 不同产地牛膝种子生活力及形态的比较研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(9):1001.
- [3] 王新民,张重义,李宇伟,等. 怀牛膝GAP栽培技术标准操作规程[J]. 安徽农业科学,2006,34(5):922.
- [4] 张红瑞,兰金旭,扶胜兰,等. 不同繁殖类型怀牛膝生长发育特性研究[J]. 中国农学通报,2010,26(20):118.
- [5] 修佳,陈红,张卫华,等. 不同商品等级规格牛膝多糖含量的比较[J]. 中国医院药学杂志,2009,29(5):426.
- [6] 张振凌,石延帮,陈红. 不同商品等级牛膝饮片酒炙前后齐墩果酸含量的比较[J]. 中药材,2008(5):9.

Study on seed quality of *Achyranthes bidentata*

QI Jianjun, LI Xian'en*, ZHOU Lili, SUN Peng

(Institute of Medicinal Plants Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To study the seed quality of *Achyranthes bidentata* from different sources and establish a standard of seed quality grading. **Method:** Seed weight and moisture content determination, germination test, purity analysis were carried out by 100 grains method, high-temperature drying, double deck filter paper and GB/T354.3-Seed Testing for Crops methods respectively. Eight collections were planted in several field plots. **Result:** The 1 000 grains weight of 33 collections is 0.69 to 3.54 g with a variance coefficient 24.83%, the germination rate between 19.02% to 99% with a variance coefficient 38.24%. Seed moisture content and purity showed no significantly difference. K-means cluster analysis showed that 33 collections were divided into 3 grades: the first grade including 23 collections, the second and third grade including 5 collections respectively. Eight collections showed different field growth and yield characters. **Conclusion:** There are significant differences in seed quality of *A. bidentata*, so the classification management is needed in medicinal materials market. Germination test is an effective method before cultivating.

[Key words] *Achyranthes bidentata*; seed; quality

doi:10.4268/cjcm20111506

[责任编辑 吕冬梅]