

刺五加种苗质量分级标准及其方法的优选

付士朋¹, 沈宏伟¹, 王谦博², 张爽¹, 刘悦¹, 王振月^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 广东药科大学附属第一医院, 广州 510000)

[摘要] **目的:** 研究刺五加种苗质量, 制定分级标准, 并优选最佳分析方法。**方法:** 观察并测量一年生不同产地(宝清、林口、七台河、东方红、依兰、阿城、饶河及亚布力)刺五加实生苗的株高, 径粗、叶面积, 根长, 叶绿素含量等主要农艺性状。分别采用K-聚类分级法, 主成分评价因子K-聚类分析法, 标准差法进行分级, 以不同级别种苗成活率为指标来评价3种分级方法。**结果:** 直接K-聚类分析方法进行刺五加种苗的质量分级为最优方法, 将刺五加种苗分为3级, 其中I级种苗株高 ≥ 13 cm, 茎粗 ≥ 0.37 cm, 根长 ≥ 8 cm, 叶面积 ≥ 28 cm², 叶绿素含量 ≤ 31 (SPAD值, 下同), 主要所属产地为宝清, 七台河地区; II级种苗株高8~13 cm, 茎粗0.30~0.37 cm, 根长6~8 cm, 叶面积13~28 cm², 叶绿素含量31~32, 主要所属产地为阿城, 东方红, 饶河地区; III级种苗株高5~8 cm, 茎粗0.26~0.30 cm, 根长5~6 cm, 叶面积5~13 cm², 叶绿素含量32~38, 主要所属产地为亚布力、依兰、林口。**结论:** 该实验初步建立了刺五加种苗的质量分级标准, 并确定了宝清县和七台河为黑龙江省内育苗选种的优质产区, 为刺五加种苗种植及人工栽培提供质量评价依据。

[关键词] 刺五加; 种苗; 质量标准; 分级方法

[中图分类号] R289; R285; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)17-0160-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2019

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190610.1540.002.html>

[网络出版时间] 2019-06-12 14:00

Quality Grading Criteria and Optimize Methods of *Acanthopanax senticosus* Seedlings

FU Shi-peng¹, SHEN Hong-wei¹, WANG Qian-bo², ZHANG Shuang¹, LIU Yue¹, WANG Zhen-yue^{1*}

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. The First Affiliated Hospital, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the quality of *Acanthopanax senticosus* seedlings, develop grading standards and optimize the best analytical method. **Method:** Observing and measuring the plant height, diameter, leaf area, root length, chlorophyll content and other main agronomic traits of *A. senticosus* seedlings from different habitats (Baoqing, Qitaihe, Dongfanghong, Yilan, Acheng, Raohe Linkou and Yabuli) in each year. K-cluster grading method, principal component evaluation factor K-cluster analysis method, standard deviation method for grading, three classification methods were evaluated with different levels of seedling survival rate as indicators. **Result:** The direct K-cluster analysis method was used to determine the quality of *A. senticosus* seedlings as the best method. The seedlings of *A. senticosus* were divided into 3 grades, among in the first level the seedling height is ≥ 13 cm, the stem diameter is ≥ 0.37 cm, the root length is ≥ 8 cm, the leaf area is ≥ 28 cm², the chlorophyll content is ≤ 31 , the main origin is Baoqing, Qitaihe area. In the second level the seedling height is

[收稿日期] 20190118(010)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2016YFC0500303); 黑龙江省国家科技重大专项和重点研发项目省级项目(GX17C006)

[第一作者] 付士朋, 在读硕士, 从事刺五加种子种苗质量标准研究, E-mail: 1196683291@qq.com

[通信作者] * 王振月, 教授, 博士生导师, 从事中药资源研究, Tel: 0451-87266873, E-mail: wangzhen_yue@163.com

8-13 cm, the stem diameter is 0.30-0.37 cm, the root length is 6-8 cm, the leaf area is 13-28 cm², the chlorophyll content is 31-32, and the main origin is Acheng, Dongfanghong, Raohe area. In the third level the seedling height is 5-8 cm, the stem diameter is 0.26-0.30 cm, the root length is 5-6 cm, the leaf area is 5-13 cm², the chlorophyll content is 32-38, and the main origin is Yabuli, Yilan and Linkou. **Conclusion:** In this experiment, the quality grading standards of *A. senticosus* seedlings were preliminarily established, Baoqing and Qitaihe can be used as a high-quality production area for breeding seeds in the Heilongjiang province. which provided the basis for quality evaluation of *A. senticosus* seedling planting and artificial cultivation.

[**Key words**] *Acanthopanax senticosus*; seedling; quality standard; classification method

刺五加为五加科植物刺五加的干燥根及根茎或茎,是我国临床常用大宗中药材。收载于 2015 年版《中国药典》,具有益气健脾,补肾安神之功效^[1],能调节机体内外环境的平衡,增强机体的抵抗力,具有扶正固本的作用;可以调节免疫内分泌、血液循环、神经心脑血管等方面功能;对神经衰弱、脑栓塞、心脏病有较好的疗效,特别是对白细胞减少症和糖尿病有显著的疗效。近年由于我国以刺五加为原料的药品和保健品的大量开发,导致刺五加用量逐年增高,刺五加野外生长缓慢,种子繁殖成活率低,高强度采挖下,使刺五加野生资源匮乏,已被列为了渐危物种^[2],而人工规模化种植,不仅可以保护刺五加野生资源,还能有效缓解市场供需。

中药材种子种苗质量的标准化是中药材标准化的源头及基础,《中华人民共和国种子法》对中药材本身的特殊性缺乏明确的规定^[3],导致中药材质量标准的监管力度远远落后于农业^[4]。目前刺五加只有两个行业标准,未对刺五加种苗制定统一的国家标准。随着人们对刺五加价值的认识不断提高,刺五加人工栽培的规模也逐渐加大,栽培过程中刺五加种苗的质量决定了刺五加药材的质量和产量,尤其是尚未达到采收年限的多年生药材,人工栽培迫切需要评价药材种苗质量标准。选择测定指标时考虑到后续种苗的移栽实验,所以测定指标要确保种苗在不受破坏的基础上,选择有代表性的,并可测量的性状,为此,本实验测定了不同产地刺五加实生苗的株高,茎粗,根长,叶面积,叶绿素含量等主要农艺性状,并进行分级研究,以其成活率为评价指标来优选出最适刺五加种苗的分级方法,为人工培育刺五加及刺五加种苗进一步研究提供参考依据。

1 材料

2018 年 3 月 20 日,分别对采集于宝清(BQ),林口(LK),东方红(DFH),七台河(QTH),依兰(YL),阿城(AC),饶河(RH)及亚布力(YBL)8 个产地的刺五加种子进行层积处理得到 360 株刺五加

一年生种苗^[5]。

FYZ-160 型恒温培养箱(杭州汇尔公司);BDZ-246 型电热鼓风干燥箱(上海博迅集团);METTLER AE240 型 1/10 万天平[泰多利科学仪器(北京)有限公司];CD730 型游标卡尺(无锡锡工量具有限公司);SPAD-502 Plus 型叶绿素仪(柯尼卡美能达投资有限公司);Microtek Scan Maker 9700XL LA-S 系列植物图像扫描仪(杭州万深科技有限公司)。

2 方法

2.1 种苗主要农艺性状参数观测 8 个产地的刺五加种苗随机抽取 45 株编号并挂牌,用卷尺分别测量其株高及根长;用游标卡尺测量其径粗;用手持叶绿素仪在每株叶片上随机测量 3 次,取平均值作为该植株最终叶片叶绿素含量值;Microtek Scan Maker 9700XL 获取叶片图像,万深 LA-S 型叶面分析系统对幼苗叶片进行处理^[6]。

2.2 质量分级方法

2.2.1 K-聚类分级方法 采用 Excel 2013 对实验数据进行初步计算,采用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行方差分析,K-均值聚类分析研究,制定刺五加实生苗分级标准,其中每一项均符合规定标准才可纳入该标准等级(下同)。

2.2.2 主成分评价因子 K-聚类分析方法^[7] 采用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行方差分析、相关性分析,主成分分析并提取到 2 个主成分,计算主成分的累积贡献率,进而获得主成分的特征向量和特征根,得到种苗评价因子(F)计算公式,采用该公式计算所测得评价因子并进行 K-聚类分析,制定分级标准。

2.2.3 标准差法^[8] 采用 Excel 2013 对实验数据进行初步计算,获得各参数的均值和标准差;采用标准差法对刺五加种苗进行分级处理,分级原则为各性状的平均值加标准差作为一、二级的分界点,平均值是二、三级种苗的分界点,平均值减标准差作为三级的最低值,低于三级的最低值即为等外种苗,以此

作为分级标准。

2.2.4 种苗分级方法的比较 360 株刺五加种苗移栽后进行统一的田间管理,于 3 个月后统计每个等级种苗的存活情况;对 3 种刺五加种苗分级方法进行评价,以期找到最优方法。

3 结果与分析

3.1 移栽参数数据 移栽当日共记录 360 株刺五加种苗移栽后的生长情况,并测量了株高,茎粗,叶绿素含量,根长,具体数据见表 1。8 个产地实生苗图像扫描图见图 1。

表 1 刺五加实生苗植株参数统计描述 (n = 360)

Table 1 Statistical description of parameters of *Acanthopanax senticosus* seedlings (n = 360)

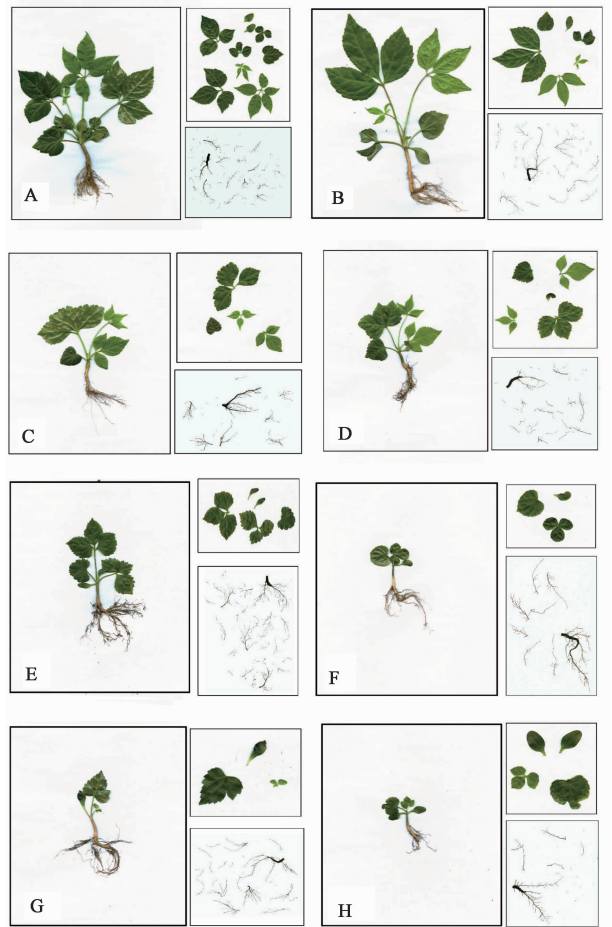
参数	最小值	最大值	均值	标准差	变异系数
株高/cm	3.700	15.375	7.339	1.776	0.242
茎粗/cm	0.223	0.398	0.288	0.012	0.052
根长/cm	2.678	8.871	6.138	1.442	0.235
叶面积/cm ²	2.475	30.517	12.099	2.819	0.233
叶绿素/SPAD	25.125	45.000	34.884	8.093	0.232

3.2 刺五加种苗质量分级方法的优选

3.2.1 种苗参数 K-聚类分析 采用 SPSS 19.0 进行刺五加种苗参数 K-聚类,以株高,茎粗,根长,叶面积,叶绿素含量为主要指标,划分为三个等级,由表 2 可以看出二、三等级刺五加种苗数量最多,约占刺五加总数的 75.0%,主要所属产地为阿城,东方红,饶河和亚布力、依兰、林口;一级占刺五加种苗总数的 25.0%,其中一等刺五加种苗主要属于宝清,七台河。

3.2.2 刺五加种苗参数主成分分析结合聚类分析 采用 SPSS 19.0 软件对刺五加种苗的株高、茎粗、根长、叶面积、叶绿素含量 5 个指标参数进行相关性分析,结果表明各参数之间的相关性均有统计性意义,株高与茎粗、根长、叶面积,茎粗与根长、叶面积,根长与叶面积、呈极显著正相关 (P < 0.01),株高、茎粗、根长、叶面积与叶绿素含量呈显著负相关 (P < 0.05)。说明这 5 个种苗参数都能真实地反映刺五加种苗的质量信息,为刺五加实生苗分级的适合指标。见表 3。

由主成分分析结果可知,前 2 个累积方差贡献率达到 91.969%,说明这 2 个主成分基本代表了全部指标信息,取前两个特征值,并计算相应的特征向量。见表 4。



A. 宝清; B. 七台河; C. 阿城; D. 东方红; E. 饶河; F. 亚布力; G. 依兰; H. 林口

图 1 八个产地实生苗扫描

Fig.1 Scanning images of eight different origins seedlings

2 个主成分, $F_1 = 0.257 \times \text{株高} + 0.467 \times \text{茎粗} + 0.460 \times \text{根长} + 0.143 \times \text{叶面积} + 0.471 \times \text{叶绿素含量}$, $F_2 = 0.053 \times \text{株高} - 0.286 \times \text{茎粗} - 0.304 \times \text{根长} + 0.222 \times \text{叶面积} - 1.065 \times \text{叶绿素含量}$ 。评价因子 F 的计算公式为 $F = F_1 \times 0.7811 + F_2 \times 0.1386$ 。计算所有种苗的评价因子 F 并对其进行 K-聚类分析,把 120 株刺五加种苗分为 3 等,根据实际参数得出二等种苗的数目最多,占 39%;一、三等种苗则分别占 24%, 37%。见表 5。

3.2.3 刺五加种苗分析标准差法 以刺五加种苗的株高、茎粗、根长、叶面积、叶绿素含量为指标参数统计,采用标准差法对刺五加种苗进行分级处理,分级原则见 2.2.3,获得各等级参数范围。合格种苗约占总数的 87.5%,等外种子占比 12.5%。其中三等种苗的比例最大为 62.5%,所属产地为阿城、东方红、饶河、亚布力、依兰。见表 6。

3.2.4 3 种刺五加种苗分级方法的比较 刺五加

表 2 K-最终聚类中心和所属等级比例及产地

Table 2 K-final cluster center and its grade ratio and origin

等级	株高/cm	茎粗/cm	根长/cm	叶面积/cm ²	叶绿素/SPAD 值	各等级种苗占比/%	所属产地
一	12.9	0.373	7.9	27.7	31.0	25.0	BQ, QTH
二	8.5	0.299	6.4	12.6	31.7	37.5	AC, DFH, RH
三	5.1	0.258	5.5	4.7	38.2	37.5	YBL, YL, YK

表 3 刺五加实生苗主要参数的相关系数 (n = 360)

Table 3 Correlation coefficient of main parameters of *Acanthopanax senticosus* seedlings (n = 360)

参数	株高	茎粗	根长	叶面积	叶绿素含量
株高	1.000	0.836 ²⁾	0.751 ²⁾	0.938 ²⁾	-0.645 ²⁾
茎粗		1.000	0.770 ²⁾	0.830 ²⁾	-0.532 ¹⁾
根长			1.000	0.674 ²⁾	-0.536 ¹⁾
叶面积				1.000	-0.694 ²⁾
叶绿素含量					1.000

注: ¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01。

表 4 主成分变量解释

Table 4 Explanation of principal component variables

主成分	初始特征值			被提取的载荷平方和		
	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%	合计	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	3.906	78.114	78.114	3.906	78.114	78.114
2	0.543	13.855	91.969	0.543	13.855	91.969
3	0.342	3.846	95.815			
4	0.160	3.197	99.012			
5	0.049	0.988	100.000			

表 6 刺五加种苗参数标准差法分级参数

Table 6 Standard parameters of *Acanthopanax senticosus* seedling parameters

等级	种苗参数						
	株高/cm	茎粗/cm	根长/cm	叶面积/cm ²	叶绿素/SPAD 值	各等级种苗占比/%	所属产地
一	10.9	0.341	5.2	21.0	40.3	16.7	BQ
二	7.3	0.288	3.5	12.1	34.9	8.3	部分 QTH
三	3.8	0.235	1.9	3.2	29.4	62.5	AC, DFH, RH, YBL, YL
等外	<3.8	0.235	1.9	3.2	29.4	12.5	LK

有效来看,刺五加种苗参数直接 K-聚类分析是最优的刺五加种苗质量分级方法。见表 7。

4 讨论

种子(种苗)是最基本中药材生产的物质基础,种子(种苗)质量的好坏直接影响中药材的产量与质量,制定种子种苗分级标准是保障种子(种苗)质

表 5 刺五加种苗评价因子(F)聚类中心和所属苗数比例及产地

Table 5 Clustering Center of *Acanthopanax senticosus* seedling evaluation factor(F) and proportion and origin of seedlings

等级	初始聚类中心	最终聚类中心	各等级苗数占比/%	所属产地
一	23.445	22.706	24	BQ, QTH
二	20.119	20.908	39	AC, DFH, RH
三	16.802	18.203	37	YBL, YL, LK

药材的入药部位是根及根茎或茎,刺五加实生苗未达到用药标准,不适宜测定刺五加产量、有效成分分析。刺五加种苗的质量分级方法可以通过评价种苗的成活率来实现,从定植移栽后 3 个月的存活率来看,直接 K-聚类分析方法与主成分分析评价因子 K-聚类分析方法的等级质量与存活率具有明显的正相关,其中一、二、三等级的种苗存活率分别为 81.03%、72.32% 和 44.81%。标准差法二级种苗的存活率为 80%,是其方法所有等级存活率最高值,其次为一等级种苗存活率为 75%,再次为三等,等外最低,没有呈现明显的相关性。因此从简便

量,是提高产量的有效途径^[9-10]。近年来,关于中药材质量标准分级的文献很多,马伟等^[11]通过 K-聚类分析法进行了短瓣金莲花种子种苗的质量标准分级研究,刘洪见等^[12]运用主成分分析方法对杂交石竹种苗进行了质量评价,孙长生等^[8]采用标准差法对山豆根种苗的分级和质量标准提供了参考,本研

表 7 3 种刺五加种苗质量分级评价方法的对比

Table 7 Comparison of three methods for grading quality evaluation of *Acanthopanax senticosus* seedlings

等级	直接 K-聚类			主成分分析因子 K-聚类			标准差法		
	移栽苗数 /株	存活数量 /株	存活率 /%	移栽苗数 /株	存活数量 /株	存活率 /%	移栽苗数/株	存活数量/株	存活率/%
一	90	72	80.0	84	69	82.4	60	45	75.0
二	135	96	62.0	141	100	70.9	30	24	80.0
三	135	65	48.0	135	56	41.5	225	115	51.1
等外							45	12	26.7

究通过测量刺五加种苗的农艺指标,运用直接 K-聚类分析法、主成分分析法、标准差法来进行分级标准方法的确定,以不同级别的刺五加种苗存活率为指标来评价 3 种质量分级方法。最终得出直接 K-聚类分析法更适合刺五加种苗的分级标准研究。

在对刺五加种苗的调查与测定过程中,除以株高,茎粗,根长,叶面积作为常见的质量分级指标之外,还添加了叶绿素含量这一指标。叶绿素在植物光合作用中起着能量传递和捕获的作用,并指示植物生长发育状况^[13-14]。利用手持叶绿素仪能方便,准确的得到植株叶片的叶绿素含量。对 8 个产地的刺五加种苗进行质量分级研究,优选出直接 K-聚类分析法为刺五加种苗质量分级的最适方法,考虑到实际生产及应用的可行性将株高,根长,叶面积,叶绿素含量数值精确到整数位,茎粗变化范围较小,精确到 0.01 cm,其中一级种苗株高 ≥ 13 cm,茎粗 ≥ 0.37 cm,根长 ≥ 8 cm,叶面积 ≥ 28 cm²,叶绿素含量 ≤ 31 ,主要所属产地为宝清,七台河地区;二级种苗株高 8 ~ 13 cm,茎粗 0.30 ~ 0.37 cm,根长 6 ~ 8 cm,叶面积 13 ~ 28 cm²,叶绿素含量 31 ~ 32,主要所属产地为阿城,东方红,饶河地区;三级种苗株高 5 ~ 8 cm,茎粗 0.26 ~ 0.30 cm,根长 5 ~ 6 cm,叶面积 5 ~ 13 cm²,叶绿素含量 32 ~ 38,主要所属产地为亚布力、依兰、林口。刺五加种苗不同产地间差异显著,宝清县和七台河的刺五加种苗具有明显优势,属于一级刺五加种苗,种苗质量良好,可为当地刺五加育苗选择种苗方面提供一定参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:206-207.
[2] 汪松,解焱. 中国物种红色名录. 第一卷[M]. 北京:高等教育出版社,2004:101.

[3] 高娜,孙永军,张建军,等. 中药材种子种苗质量分级标准研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(4):129-132.
[4] 禹娟红,张尚智. 黄芪种子种苗质量标准研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2018,37(4):95-96.
[5] 沈宏伟,张爽,李佳宾,等. 不同浓度的外源 NO 对刺五加种子激素及酶含量变化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190110.
[6] 丁晓纲,刘喻娟,张晓珊,等. 不同浓度指数施肥对美丽异木棉等 3 个树种幼苗生长的影响[J]. 生态环境学报,2013,22(4):619-624.
[7] 李俊仁,陈秀珍,梁凌玲,等. 岗梅种苗质量分级标准研究[J]. 种子,2016,35(3):115-118.
[8] 孙长生,朱虹,龙祥友. 山豆根种苗质量的分级指标探讨[J]. 贵州农业科学,2016,44(1):140-142.
[9] 张玉,戚莹雪,王蕾,等. 丹参种子种苗质量标准研究进展[J]. 中国种业,2018(6):8-12.
[10] 李颖,黄璐琦,张小波,等. 中药材种子种苗繁育基地建设进展概况[J]. 中国中药杂志,2017,42(22):4262-4265.
[11] 马伟,张美琦,徐姣,等. 短瓣金莲花种子及种苗质量分级标准[J]. 东北林业大学学报,2018,46(8):56-59.
[12] 刘洪见,郑坚,张旭乐,等. 主成分分析法在杂交石竹种苗质量评价上的应用[J]. 农业科技通讯,2017(12):157-160.
[13] Inoue Y, Guérfi M, Baret F, et al. Simple and robust methods for remote sensing of canopy chlorophyll content: a comparative analysis of hyperspectral data for different types of vegetation [J]. Plant Cell Environ, 2016,39(12):2609-2623.
[14] Thomidis T, Zioziou E, Koundouras S, et al. Effect of prohexadione-Ca on leaf chlorophyll content, gas exchange, berry size and composition, wine quality and disease susceptibility in *Vitisvinifera* L. cv Xinomavro [J]. Sci Hort,2018,238:369-374.

[责任编辑 顾雪竹]