



# 团 体 标 准

T/CACM 1326.17—2019

---

## 人参种子超低温保存技术规程

Technical code of practice for cryopreservation of *Panax ginseng* C. A. Mey. seeds

2019 - 10 - 17 发布

2019 - 10 - 17 实施

---

中 华 中 医 药 学 会 发 布

## 目次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 种子采收及选择.....	2
4.1 种子采收.....	2
4.2 种子选择.....	2
5 种子前处理.....	2
5.1 活力.....	2
5.2 含水量范围.....	2
6 种子保存量.....	3
7 种子冷冻方式.....	3
8 恢复培养.....	3
8.1 种子解冻处理.....	3
8.2 冻后种子活力检测.....	3
8.3 萌芽成苗.....	3
附录 A（规范性附录）TTC/磷酸盐缓冲液的配制和保存方法.....	4
参考文献.....	5

## 前 言

本标准是药用植物顽拗性种子超低温保存系列标准之一，该系列标准结构和名称如下：

- T/CACM 1326.1 药用植物顽拗性种子超低温保存技术通则；
- T/CACM 1326.2 白木香种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.3 降香种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.4 益智种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.5 高良姜种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.6 朱砂根种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.7 草豆蔻种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.8 化州柚种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.9 樟种子超低温保存技术规程；
- T/CACM 1326.10 两面针种子超低温保存技术规程；

……………。

本标准按照 GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提出。

本标准由中华中医药学会归口。

本标准起草单位：中国医学科学院药用植物研究所海南分所、中国医学科学院药用植物研究所。

本标准主要起草人：曾琳，魏建和，顾雅坤，谭红琼，符丽，金钺，郑希龙，李榕涛，王秋玲，何明军。

# 人参种子超低温保存技术规程

## 1 范围

本标准规定了人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey.) 种子超低温保存过程中的术语和定义、种子的选择、种子前处理、种子保存量、种子冷冻方式、恢复培养等内容。

本标准适用于人参种子的液氮超低温长期贮藏。

## 2 规范性引用文件

下列文件对本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 3543.6 农作物种子检验规程 水分测定

GB/T 3543.7 农作物种子检验规程 其他项目检验

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**人参** *Panax ginseng* C. A. Mey.

为五加科 (Araliaceae) 人参属 (*Panax* Linn.) 多年生草本植物，中药名亦为人参，以根茎叶入药。人参的肉质根为著名强壮滋补药，适用于调整血压、恢复心脏功能、神经衰弱及身体虚弱等症，也有祛痰、健胃、利尿、兴奋等功效。收载于《中华人民共和国药典》(2015 版)。

### 3.2

**人参果实** *Panax ginseng* C. A. Mey. fruits

果实扁球形，鲜红色，长 4 mm~5 mm，宽 6 mm~7 mm。

### 3.3

**人参种子** *Panax ginseng* C. A. Mey. seeds

人参的播种材料为完整种子，贮藏特性判断为中间性种子。种子乳白色，肾形，直径 4 mm~5 mm。

### 3.4

**种子超低温保存** seed of cryopreservation

将经过前处理的人参种子置于液氮 (-196 ℃) 中保存。

## 4 种子采收及选择

### 4.1 种子采收

6月~9月,待果实种皮变成深红色时,即可采收,去除外种皮,取出种子。

### 4.2 种子选择

挑选发育饱满、成熟、健康的种子,置于4℃冰箱中保存备用(存放时间不超过3个月)。

## 5 种子前处理

### 5.1 活力

#### 5.1.1 检测

人参种子活力以种子生活力为判别标准。按照GB/T 3543.7中的2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)法检测种子生活力。随机抽取30粒种子,沿种脊小心将种子分成2瓣,放培养皿内,内侧面向下,滴入TTC溶液浸没种子,室温(25℃)避光放置4h后观察染色结果。

TTC溶液的配制和保存方法见附录A的A.1和A.2。

#### 5.1.2 鉴定及要求

直接用肉眼对染色结果进行观察鉴定。凡胚及胚乳全部染成有光泽的鲜红色,且组织状态正常的,为有活力的种子,否则为无生活力的种子。

待保存的人参种子生活力应 $\geq 80\%$ 。

#### 5.1.3 计算

生活力按照公式(1)进行计算:

$$A = \frac{y}{x} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A——生活力;

y——有活力的种子数;

x——总的种子数。

### 5.2 含水量范围

用尼龙网袋包裹人参种子,置于盛有变色硅胶的干燥器内,硅胶与种子的体积比为50:1,室温条件下干燥处理2h~20h,在干燥过程中定期测定种子含水量,将种子含水量由25%~30%降至15%~28%。

按照GB/T 3543.6中的高高温烘干法(130℃烘干1h)测定种子含水量( $w_0$ ),并按照公式(2)进行计算:

$$W_0 = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$W_0$ ——含水量,用百分数表示(%);

$M_1$ ——种子鲜重,单位为克(g);

$M_2$ ——种子烘后重量,单位为克(g)。

## 6 种子保存量

人参种子保存量不少于 300 粒,以便后期的活力检测使用。

## 7 种子冷冻方式

人参种子超低温保存的冷冻方式为直接冷冻法,即将待保存的人参种子放入 5 mL 冻存管(每管 50 粒种子)中,迅速投入液氮中保存。

## 8 恢复培养

### 8.1 种子解冻处理

液氮中至少冻存 24 h 后,取出 1 个冻存管,立即放入 40 ℃ 水浴中快速解冻 2 min。

### 8.2 冻后种子活力检测

取出 25 粒解冻后的种子,按照 5.1 活力检测方法进行超低温保存后的初始生活力检测。当种子生活力  $\geq 75\%$  时视为保存成功。

### 8.3 萌芽成苗

将剩下 25 粒解冻后的人参种子,播种到带有无菌滤纸的带盖发芽盒中,温度 25 ℃~30 ℃,湿度 70%~85% 条件下培养。

附录 A  
(规范性附录)

TTC/磷酸盐缓冲液的配制和保存方法

A.1 三苯基氯化四氮唑 (TTC) 溶液配置和保存方法

精密称取 TTC 1.00 g, 溶于 100 mL 磷酸盐缓冲溶液中, 制成浓度为 1% 的 TTC 溶液, 调 pH 至 6.5~7.5, 放于棕色瓶内, 置于 4 °C 冰箱中备用。

A.2 磷酸盐缓冲液配置方法

溶液 I: 9.08 g 磷酸二氢钾溶于 1 L 无菌水中;

溶液 II: 35.81 g 磷酸二氢钠溶于 1 L 无菌水中;

按 I:II = 2:3 的比例混合制成磷酸盐缓冲溶液。

### 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京, 中国医药科技出版社, 2015, 9
- [2] 中国科学院中国植物志委员会. 中国植物志. 第 54 卷[M]. 科学出版社, 1987: 180
- [3] Shang Chih-bei, Porter P, Lowry II. Araliaceae [M] //Flora Of China Beijing: Science Press/St. Louis: Missouri Botanical Garden Press. 2007. 13: 489-491.
- [4] 傅家瑞, 宋松泉. 顽拗性种子生物学[M]. 中国科学文化出版社, 2004:1
- [5] Reed BM. Plant Cryopreservation-A Practical Guide[M]. Springer, 2010:3
-