



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110622808 B

(45) 授权公告日 2021. 11. 23

(21) 申请号 201910916295.X

(22) 申请日 2019.09.26

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110622808 A

(43) 申请公布日 2019.12.31

(73) 专利权人 中国科学院昆明植物研究所
地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

(72) 发明人 杨颖婕 权雪 张石宝 胡江苗
黄家林

(74) 专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569
代理人 瞿晓晶

(51) Int. Cl.
A01G 22/25 (2018.01)
A01G 22/60 (2018.01)

(56) 对比文件

CN 107926570 A, 2018.04.20

CN 101263811 A, 2008.09.17

CN 109122157 A, 2019.01.04

CN 109566655 A, 2019.04.05

CN 104664236 A, 2015.06.03

CN 102763530 A, 2012.11.07

CN 109392354 A, 2019.03.01

CN 107197674 A, 2017.09.26

JP 6535914 B2, 2019.07.03

权雪.《水分对药用兰科植物白芨生理和形态结构的影响》.《植物科学学报》.2018,
赵胜楠.《水因子对黄芩药材质量及产量的影响研究》.《中国优秀硕士学位论文全文数据库农业科技辑》.2013,

审查员 冯凡凡

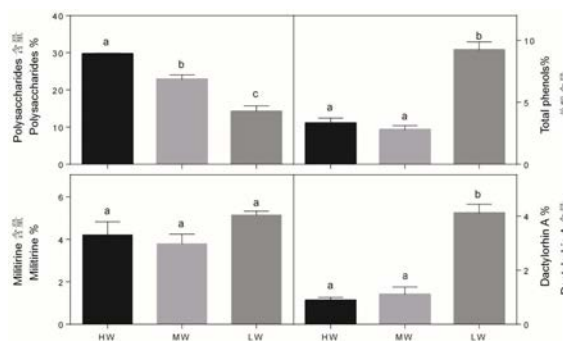
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54) 发明名称

一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法

(57) 摘要

本发明涉及一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法,属于白芨种植技术领域。本发明所述种植方法包括以下步骤:在白芨种苗萌发到成熟期保持75~85%的土壤相对含水量,采收前下调土壤相对含水量至20~30%;所述土壤相对含水量的计算方法为:土壤相对含水量=土壤含水量/田间持水量×100%本发明通过控制土壤相对含水量,显著提高了白芨产量及有效成分含量。



1. 一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法,包括以下步骤:
在白芨种苗萌发后至成熟期保持75~85%的土壤相对含水量,采收前下调土壤相对含水量至20~30%;
所述土壤相对含水量的计算方法为:
土壤相对含水量=土壤含水量/田间持水量×100%;
所述采收前为白芨采收前4~6周;
所述有效成分是多糖、总酚和dactylorhin A。
2. 根据权利要求1所述的种植方法,其特征在于,所述萌发为白芨发芽率达到95%以上。
3. 根据权利要求1所述的种植方法,其特征在于,所述白芨种苗选择二年生白芨假鳞茎。
4. 根据权利要求3所述的种植方法,其特征在于,所述二年生白芨假鳞茎的直径为0.8~1.5cm。
5. 根据权利要求1所述的种植方法,其特征在于,种植的最大光照为全光照的50%。
6. 根据权利要求1所述的种植方法,其特征在于,种植的温度为20~32℃。
7. 根据权利要求1所述的种植方法,其特征在于,种植的相对湿度为50~70%。
8. 根据权利要求1所述的种植方法,其特征在于,种植用基质包括腐叶土和红土的混合物。
9. 根据权利要求8所述的种植方法,其特征在于,所述腐叶土和红土的体积比为0.8~1.2:1。

一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法

技术领域

[0001] 本发明涉及白芨种植技术领域,具体涉及一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法。

背景技术

[0002] 白芨 (*Bletilla striata*) 亦作白及,又名连及草、甘根、白给,为多年生的温带地生兰科植物。白芨不仅是一种观赏园艺植物,更是我国传统中药材,具有重要的药用价值。《本草纲目》记载,白芨“气味(根)苦、平、无毒”。根据药典记载,白芨具有收敛止血,消肿生肌的功效,主治咯血、呕血、衄血、外伤出血、疮疡肿痛、溃疡久不收口等病。目前认为,白芨多糖是白芨中的主要有效成分,含量可高达35%。其他主要活性成分还包括二氢菲类化合物、联苜类化合物、三萜类化合物及其皂苷、类固醇及其皂苷等。

[0003] 白芨为国家二级保护植物和世界濒危保护物种,近年来野生白芨资源遭到了无节制采挖,资源数量急剧减少,药用原料严重匮乏,已被《中国物种红色名录》收入,也是《濒危野生动植物种国际贸易公约(CITES)》的保护种类。随着对白芨需求量的增加,仅仅依靠采挖野生白芨已不能满足制药企业及其它企业的原料需求。目前,由于对白芨的生物学特性、环境因素对白芨的生长和有效成分积累的影响等缺乏系统的认识,无法针对性地制定白芨的高效生产种植规程,难以获得稳定的产量和质量。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法。本发明通过控制土壤相对含水量,显著提高了白芨产量及有效成分含量。

[0005] 本发明提供了一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法,包括以下步骤:

[0006] 在白芨种苗萌后至成熟期保持75~85%的土壤相对含水量,采收前下调土壤相对含水量至20~30%;

[0007] 所述土壤相对含水量的计算方法为:

[0008] $\text{土壤相对含水量} = \text{土壤含水量} / \text{田间持水量} \times 100\%$ 。

[0009] 优选的是,所述萌发为白芨发芽率达到95%以上。

[0010] 优选的是,所述采收前为白芨采收前4~6周。

[0011] 优选的是,所述白芨种苗选择二年生白芨假鳞茎。

[0012] 优选的是,所述二年生白芨假鳞茎的直径为0.8~1.5cm。

[0013] 优选的是,所述种植的最大光照为全光照的50%。

[0014] 优选的是,所述种植的温度为20~32℃。

[0015] 优选的是,所述种植的相对湿度为50~70%。

[0016] 优选的是,所述种植用基质包括腐叶土和红土的混合物。

[0017] 优选的是,所述腐叶土和红土的体积比为(0.8~1.2):1。

[0018] 本发明提供了一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法。本发明在生产种植

过程中,在白芨种苗萌发后至成熟期保持较高水分供应,提高白芨产量及多糖含量;在收获之前通过控水,促进次生代谢产物积累,提高白芨品质,从而达到同步提升产量和质量的目的。试验结果表明,本发明土壤相对含水量对白芨的生理、生长和内含物质含量有显著影响,高水处理的白芨植株具有较高的叶片面积、光饱和点、气孔导度、叶绿素含量和 CO_2 同化速率,白芨的生物量积累和假鳞茎多糖含量提高;低水处理的白芨新假鳞茎总酚和dactylorhin A含量显著提高。此外,通过控水促进白芨dactylorhin A积累,可以在一定程度上达到抑制周围杂草的生长的效果,减少除草剂的使用,降低生产成本。

附图说明

[0019] 图1为本发明提供的不同水分处理下白芨光合速率(A)和气孔导度(B)对光强(PAR)的响应;

[0020] 图2为本发明提供的不同水分处理下白芨的株高频率分布图;

[0021] 图3为本发明提供的不同水分处理下白芨新假鳞茎中的多糖总量、总酚含量、militirin含量和dactylorhin A含量。

具体实施方式

[0022] 本发明提供了一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法,包括以下步骤:

[0023] 在白芨种苗萌发后至成熟期保持75~85%的土壤相对含水量,采收前下调土壤相对含水量至20~30%;

[0024] 所述土壤相对含水量的计算方法为:

[0025] $\text{土壤相对含水量} = \text{土壤含水量} / \text{田间持水量} \times 100\%$ 。

[0026] 在本发明中,在白芨种苗萌发后至成熟期优选保持80%的土壤相对含水量,采收前优选下调土壤相对含水量至20%。在白芨种苗萌发后至成熟期保持75~85%的土壤相对含水量可显著提高其光合速率,从而获得较大的生物量及多糖含量,采收前下调土壤相对含水量至20~30%可促进白芨种苗次生代谢产物的积累,从而达到同步提高白芨产量及品质的目的,可为白芨的规模化种植及高效生产带来较好的效益。在本发明中,所述白芨种苗选择二年生白芨假鳞茎。在本发明中,所述二年生白芨假鳞茎的直径为0.8~1.5cm。在本发明中,所述萌发优选为白芨发芽率达到95%以上。在本发明中,所述采收前为白芨采收前4~6周,更优选为1个月,有利于有效成分积累。在本发明中,所述种植的最大光照为全光照的50%,适合白芨生长。在本发明中,所述种植的温度为20~32℃,更优选为26℃,利于白芨生长。在本发明中,所述种植的相对湿度为50~70%,优选为60%,适合白芨生长。在本发明中,所述种植用基质优选包括腐叶土和红土的混合物,更优选包括黄土、红土和腐叶土的混合物。在本发明中,当所述种植用基质为腐叶土和红土时,所述腐叶土和红土的体积比为(0.8~1.2):1,优选为1:1。

[0027] 在本发明中,田间持水量是指土壤不受地下水影响所能保持水量的最大值,测量方法为:取原状土壤样品,经水充分浸泡后取出,经8h水分下渗过程后,取上层土样称重 m_1 ,将土样放入105℃恒温烘箱烘干至恒重,取出土样放入干燥器冷却至室温,称重 m_2 。

[0028] $\text{田间持水量} X = (m_1 - m_2) / m_2$ 。

[0029] $\text{土壤含水量(重量}\%) = (\text{原土重} - \text{烘干土重}) / \text{烘干土重} \times 100\% = \text{水重} / \text{烘干土重}$

×100%。

[0030] 下面结合具体实施例对本发明所述的一种促进白芨生长及有效成分积累的种植方法做进一步详细的介绍,本发明的技术方案包括但不限于以下实施例。

[0031] 实施例1

[0032] 挑选规格一致的二年生白芨假鳞茎(直径0.8-1.5cm)种植于腐叶土与红土的混合基质(体积比1:1)中,每盆1株。种植后放置于温室中,保持最大光照为全光照的50%,温度20℃~32℃,相对湿度50%~70%。

[0033] 白芨假鳞茎种植后约1个月萌发,当发芽率达到95%以上时,开始水分处理。水分梯度通过控制土壤相对含水量设置:高水处理(high-water,HW)为80%;中水处理(middle-water,MW)为50%;低水处理(low-water,LW)为20%。土壤相对含水量的计算为:土壤相对含水量(%)=土壤含水量/田间持水量×100%。实验过程中,土壤相对含水量通过称量整盆的重量来维持。水分处理90d后,选取健康成熟叶片进行试验测定。

[0034] 数据采用Spss 16.0 for Windows(SPSS Inc,Chicago,USA)软件进行统计分析,不同水分处理间的比较用一元方差分析,显著性检验用Tukey检验。所有统计图采用Prism 6.01(GraphPad Software Inc,La Jolla,USA)绘制。

[0035] 一、水分条件对白芨光合气体交换的影响

[0036] 光响应曲线用LI-6400光合仪(Li-Cor,USA)测量,所用叶室为6400-40荧光叶室。光响应曲线测定时,叶室温度维持在25℃,相对湿度60%~80%,CO₂浓度维持在400μmol mol⁻¹。光强梯度设置为1000、800、600、400、300、200、100、50、0μmol m⁻²s⁻¹。开始测量之前,在400μmol mol⁻¹CO₂浓度下,用600μmol m⁻²s⁻¹的饱和光强诱导20min左右,直到气孔导度和光合速率达到稳态。

[0037] 瞬时水分利用效率(WUE_i)计算为:P_n/T_r,T_r为蒸腾速率。本研究中,选取光响应曲线中光强600μmol m⁻²s⁻¹时对应的蒸腾速率(T_r)和光合速率(P_n)值。

[0038] 叶绿素含量测定方法为:称取0.07g左右的叶片,剪成0.5cm×0.5cm的小片,装入10ml容量瓶中,用N,N-二甲基甲酰胺定容,置于黑暗中提取色素48h,然后用紫外分光光度计UV-2550(Shimadzu,Japan)测定647nm和664.5nm的吸光值。根据单位质量的叶绿素含量(mg g⁻¹)和单位鲜重的叶面积,计算得到以面积为基础的叶绿素含量(μg cm⁻²)。

[0039] 土壤水分条件对白芨的光合作用具有显著影响(图1),低水处理叶片的最大光合速率(P_{max})、表观量子效率(AQE)和光饱和点(LSP)均低于高水和中水处理(表1)。通过观测光响应曲线发现,在低水处理下,植株的光合速率在光强200μmol m⁻²s⁻¹时即达到饱和,而高水和中水则要到光强600μmol m⁻²s⁻¹时才饱和,说明水分充足时白芨能适应更强的光照。虽然高水和中水处理叶片的光响应曲线相似,但是高水处理叶片相比中水处理叶片具有较高的气孔导度。低水处理的光合速率(P_n)和气孔导度(g_s)在所有光强下都显著低于高水和中水处理(图1)。低水处理的叶绿素a含量、叶绿素b含量、叶绿素a与叶绿素b的比值均低于高水处理(表1)。

[0040] 图1为不同水分处理下白芨光合速率(A)和气孔导度(B)对光强(PAR)的响应。其中,高水处理(HW,●-●),中水处理(MW,□-□),低水处理(LW,▲-▲)。误差线为平均数的标准误(SE),高水处理和中水处理n=7,低水处理n=4。

[0041] 表1不同水分处理下白芨的光合参数比较

| 性状 | HW | MW | LW |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|
| LSP ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | 617.21 \pm 50.83a | 548.59 \pm 40.88a | 163.00 \pm 54.95b |
| AQE ($\text{mol CO}_2 \text{ mol photon}^{-1}$) | 0.07 \pm 0.00a | 0.07 \pm 0.00a | 0.40 \pm 0.12b |
| R_d ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | 0.55 \pm 0.05a | 0.63 \pm 0.09a | 0.68 \pm 0.14a |
| P_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | 10.00 \pm 0.66a | 10.15 \pm 0.35a | 2.92 \pm 0.42b |
| [0042] g_s ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | 0.12 \pm 0.01a | 0.09 \pm 0.01b | 0.01 \pm 0.01c |
| WUE_i (mmol mol^{-1}) | 4.90 \pm 0.31a | 7.32 \pm 0.32a | 20.49 \pm 4.46b |
| Chla ($\mu\text{g cm}^{-2}$) | 47.50 \pm 1.64a | 41.30 \pm 2.94ab | 34.67 \pm 2.85b |
| Chlb ($\mu\text{g cm}^{-2}$) | 14.67 \pm 0.53a | 12.70 \pm 0.96ab | 11.66 \pm 0.87b |
| Chl (a+b) ($\mu\text{g cm}^{-2}$) | 62.16 \pm 2.13a | 53.98 \pm 3.90ab | 46.32 \pm 3.69b |
| Chla / Chlb | 3.24 \pm 0.05a | 3.26 \pm 0.03a | 2.97 \pm 0.06b |

[0043] 注:LSP,光饱和点光强;AQE,表观量子效率; R_d ,暗呼吸速率; P_{max} ,最大光合; g_s ,气孔导度; WUE_i ,瞬时水分利用效率;Chla,单位面积叶绿素a含量;Chlb,单位面积叶绿素b含量;Chl (a+b),单位面积叶绿素总量;Chla/Chlb,叶绿素a与叶绿素b比值。HW,高水处理;MW,中水处理;LW,低水处理。表中数据均为平均值 \pm 标准误($n=6\sim 8$),同一行数据,右侧不同的字母表示差异显著($P<0.05$)。

[0044] 二、水分条件对白芨生物量的影响

[0045] 水分处理对于白芨的株高(图2)、叶片面积、生物量以及生物量分配(表2)都产生了显著的影响。高水处理的植株更高,而低水处理的植株普遍较矮。并且,低水处理出现了个体死亡现象,死亡率为13.92%。生物量也印证了这一现象,高水和中水处理植株生物量增量明显高于低水,并且低水处理的生物量呈现负增长,说明在低水处理下,白芨植株有机物质的消耗要大于积累。

[0046] 图2为不同水分处理下白芨的株高频率分布图。HW,高水处理;MW,中水处理;LW,低水处理。

[0047] 表2不同水分处理对叶面积和干重的影响

| | 性状 | HW | MW | LW |
|--------|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | LA (cm ²) | 193.61 ± 23.41a | 187.06 ± 15.78a | 113.46 ± 8.68b |
| | ΔDW (g) | 3.016 ± 0.570a | 2.368 ± 0.478a | -0.401 ± 0.213b |
| [0048] | DW of leaf (g) | 1.105 ± 0.121a | 1.056 ± 0.09a | 0.579 ± 0.044b |
| | DW of root (g) | 0.944 ± 0.142a | 0.701 ± 0.054a | 0.224 ± 0.019b |
| | DW of the new pseudobulb (g) | 2.910 ± 0.229a | 2.161 ± 0.212b | 0.425 ± 0.039c |
| | DW of the old pseudobulb (g) | 1.561 ± 0.190a | 1.432 ± 0.327a | 1.039 ± 0.171a |

[0049] 注:LA,单个植株总叶面积;ΔDW,单个植株干重增量;DW of leaf,单个植株叶干重;DW of root,单个植株根干重;DW of the new pseudobulb,新假鳞茎干重;DW of the old pseudobulb,老假鳞茎干重。HW,高水处理;MW,中水处理;LW,低水处理。表中数据均为平均值±标准误(n=9),同一行数据,右侧不同的字母表示差异显著(P<0.05)。

[0050] 三、水分处理对白芨假鳞茎有效成分含量的影响

[0051] 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量,将假鳞茎在70℃下烘干,磨成粉后过50目筛。取0.3g样品加入200mL蒸馏水中,沸水浴回流2h,取滤液加入无水乙醇沉淀,离心,将沉淀物溶解于水中配成样品液,用紫外可见分光光度计在488nm处测定吸光度,通过葡萄糖标准曲线计算样品中的多糖含量。

[0052] 总酚含量测定方法为:将假鳞茎烘干以后打粉,过50目筛。精确称量约1g粉末,加入200ml 80%的乙醇,80℃水浴回流2h,过滤后置于称好重量的烧瓶中旋转蒸发浓缩,在浸膏样中加入70%乙醇,超声溶解制成样品液。取待试样品加入福林显色液,黑暗条件下放置10min,然后加入Na₂CO₃(20%)溶液,50℃水浴10min,用紫外可见分光光度计在760nm处测定吸光度,通过没食子酸标准曲线计算样品中的总酚含量。

[0053] 采用HPLC法测定militarine及dactylorhin A含量,将假鳞茎烘干以后打粉,过50目筛。精确称量约1g粉末,加入200ml 80%的乙醇,80℃水浴回流2h,过滤后置于称好重量的烧瓶中旋转蒸发浓缩,在浸膏样中加入70%乙醇,超声溶解制成样品液。同时制备对照液,分别进样,记录色谱,测定峰面积,计算药材含量。

[0054] 多糖既是白芨的主要有效成分,也是植物的能量储存物质。在三个处理的新假鳞茎中,随着土壤水分含量的增加多糖含量显著增加(图3),说明水分对白芨多糖的积累起促进作用并且影响显著。

[0055] 图3为不同水分处理下白芨新假鳞茎中的多糖总量、总酚含量、militarin含量和dactylorhin A含量。HW,高水处理;MW,中水处理;LW,低水处理。误差线为平均数的标准误(SE),n=3,不同的字母表示差异显著(P<0.05)。

[0056] 总酚是一类含有酚羟基的物质的总称,在一定程度上代表了一大类次生代谢产物。在白芨中总酚成分包括联苄类、菲类、丁香树脂酚、没食子酸等。低水处理组的新假鳞茎总酚含量显著高于其他两个处理(图3),说明水分胁迫能诱导次生代谢产物积累。

[0057] Militarine和dactylorhin A是两种结构类似的苄基酯类化合物,它们也是白芨的次生代谢产物。在不同水分处理的新假鳞茎间militarine的含量没有显著差异,而低水

处理的dactylorhin A显著高于其他两个处理(图3),其变化趋势与总酚含量相似。有研究表明militarine与dactylorhin A在白芨的整个植株中均有储存,属于异种化感物质,与白芨的杂草抑制作用相关。当环境改变时,它们可能会释放到周围环境中去抑制附近其他植物的生长。由此可以推测,低水条件下dactylorhin A含量的增高,可能是胁迫刺激下引发的次生代谢产物升高,目的是抑制周围植物的生长,以确保自身在水资源抢夺中的优势地位。

[0058] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

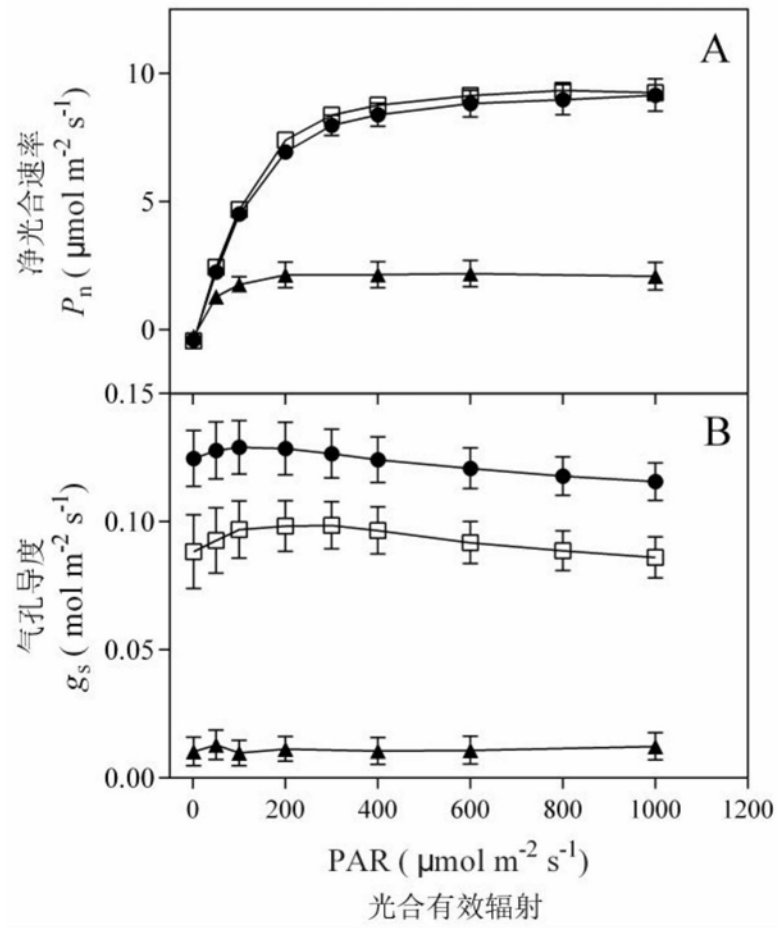


图1

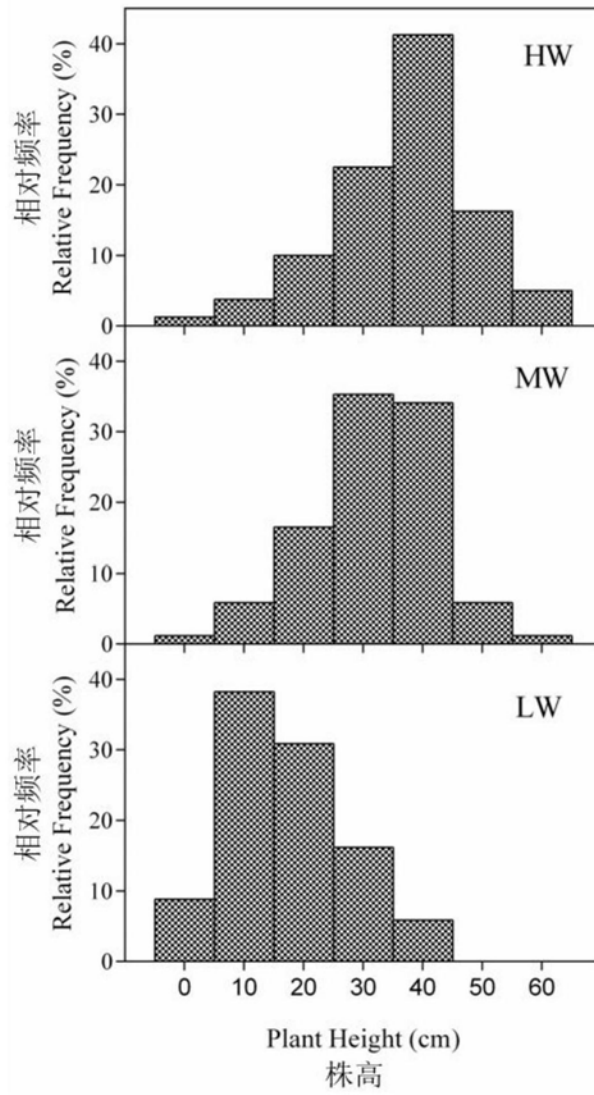


图2

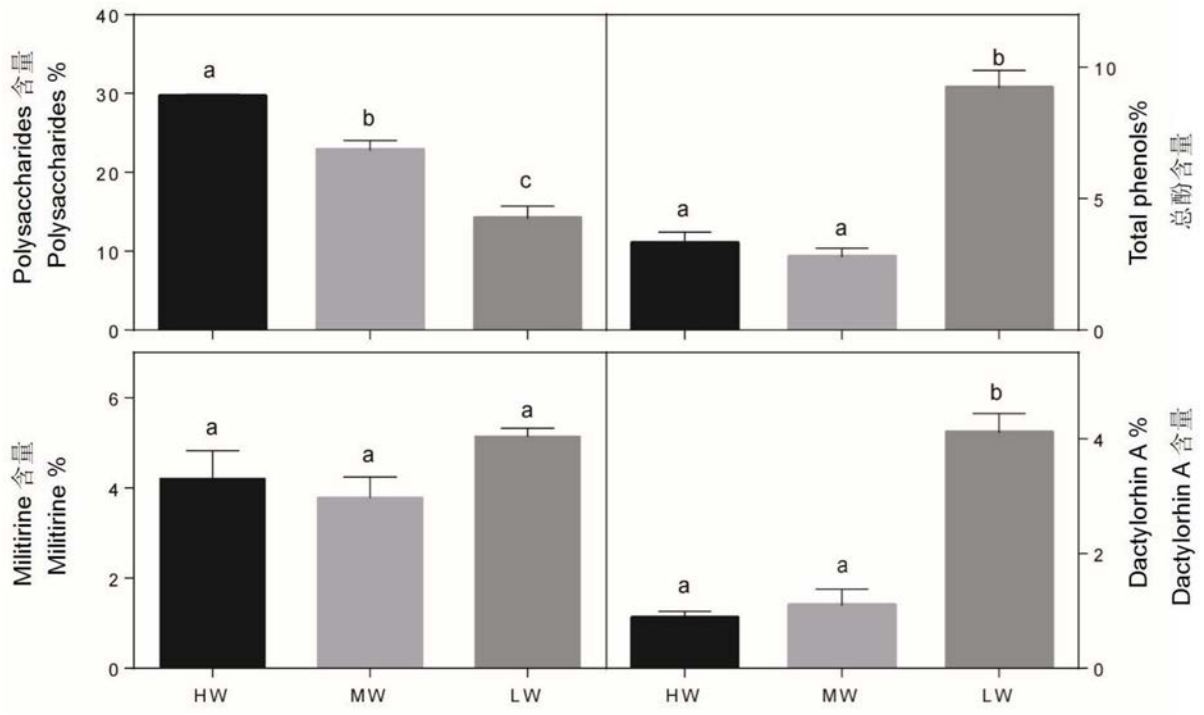


图3