

黄花蒿规范化生产标准操作规程(SOP)

蒋运生, 韦记青, 梁惠凌, 漆小雪, 陈宗游, 李 锋*

(广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)
中国科学院

摘要: 以《中药材生产质量管理规范》(GAP)为指导原则,对黄花蒿栽培生产的区划、生态环境、育苗技术、栽培技术、采收加工、档案、质量检测以及包装、储运等一系列过程开展研究。确定各个生产环节的最佳指标和方法,制定了黄花蒿的规范化生产标准操作规程,提高黄花蒿的产量和质量。

关键词: 黄花蒿; 栽培技术; 规范化生产; 标准操作规程

中图分类号: Q949.95 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)03-0363-04

Standard operating procedure (SOP) for *Artemisia annua*

JIANG Yun-Sheng, WEI Ji-Qing, LIANG Hui-Ling,
QI Xiao-Xue, CHEN Zong-You, LI-Feng*

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: The division, ecological environment, seedling technique, cultivated technique, harvest and process, file, the quantity examination, packing, store and carry the production for *Artemisia annua* were investigated according to Good Agricultural Practice of Chinese Crude Drugs (GAP) requirements. The best criteria and methods for all production links in technology have been settled down. Standard Operating Procedure (SOP) for *A. annua* have been established in order to make its high quality and high yield.

Key words: *Artemisia annua*; cultivated technique; GAP; standard operating procedure

黄花蒿 (*Artemisia annua*) 是菊科艾属一年生草本植物,为我国传统中药(王三根等,2003)。其提取物青蒿素制成的青蒿素类药是我国科学家自主研发研制的抗疟特效药(杨水平等,2004)。中药材生产质量管理规范(GAP)是国家食品药品监督管理局制定与发布的,从保证中药材质量出发,控制影响药材质量的各种因子,规范药材各生产环节乃至全过程,以促进中药标准化和现代化。由于黄花蒿特殊的药用价值,我们以“中药材生产质量管理规范”为指导原则,系统地研究控制黄花蒿产量与质量的关键因子,结合多年的研究成果,制定黄花蒿规范化

生产标准操作规程(SOP),旨在实现黄花蒿的规范化栽培,提高黄花蒿药材的质量。

1 主要内容和适用范围

按我国《中药材生产质量管理规范》(GAP)的综合技术要求,对黄花蒿生产中区划、生态环境、育苗技术、栽培技术、采收加工、档案、质量检测以及包装、储运等技术作了研究,制定广西黄花蒿规范化生产标准操作规程。本规程适用于广西黄花蒿主要生产区。

收稿日期: 2007-07-27 修回日期: 2007-12-19

基金项目: 国家自然科学基金(30660222); 中国科学院农办项目(KSCX2-YW-N-44-05); 广西科技攻关项目(0663003); 广西科学基金(0640138, 0731039)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30660222); The Project of Agricultural Office of the Chinese Academy of Sciences (KSCX2-YW-N-44-05); Key Technologies Research and Development Program of Guangxi(0663003); Science Foundation of Guangxi(0640138, 0731039)]

作者简介: 蒋运生(1966-),男(瑶族),广西恭城县人,副研究员,主要从事植物引种栽培研究, E-mail: Jys@gxib.cn.

* 通讯作者(Author for correspondence)

2 引用标准

(1)GB5084-1992 农田灌溉水质量标准。(2)GB3095-1996 大气环境质量标准。(3)GB15618-1995 土壤环境质量二级标准。(4)WM2-2001 药用植物及制剂进出口绿色行业标准。(5)《中国药典》2005年版一部。(6)国家药品监督管理局《中药材生产质量管理规范》(试行)(2002年版)。(7)GB9687-88 国家食品包装卫生标准。(8)桂农办发[2004]56号文关于确定广西种植业无公害农产品认定环境检测免检参数的通知。

3 具体要求

3.1 生态环境

黄花蒿在广西各地都有分布。主要分布于平原、丘陵及低山地带;基岩为砂页岩、砂岩或石灰岩,土壤为红壤、红黄壤及棕色石灰土。在海拔300 m以下的石山、土坡、丘陵、平地、路边及房前屋后的红壤、红黄壤、石灰土等均有分布,且能正常生长发育。据测定,土层0~35 cm深的有机碳含量0.288 4%~1.785 6%;有机质0.255 7%~3.078 4%;全氮0.106 2%~0.422 6%;全磷0.074 1%~0.410 5%;全钾0.661 0%~3.179 9%(李锋等,1997)。

选择远离工矿区和公路铁路干线、避开工业和城市污染源的适生地作为黄花蒿GAP生产基地。其中大气符合大气环境质量标准(GB3095-1996),土壤质量基本符合《土壤环境质量标准》(GB15618-1995)中二级质量标准,灌溉水水质质量符合《农田灌溉水质标准》(GB5084-92)中的二级质量标准。

3.2 品种类型

黄花蒿在本规程中指的是菊科艾属一年生草本植物 *Artemisia annua*。选用桂93001号、桂93004号和桂93006号等黄花蒿叶青蒿素含量 $\geq 0.8\%$ 的高产优质的黄花蒿良种。

3.3 黄花蒿生物学特性及生长习性

黄花蒿为浅根系植物,主根短,侧根发达,多而密集。从发芽到侧枝出现前,生长较为缓慢;5月下旬至7月下旬为高生长速生期;7月下旬后高生长量逐渐缓慢,到9月上旬的花蕾期,高停止生长。基茎粗生长在生长前期即5月下旬以前为速生期,该期间茎粗增长最快,生长量占整个生长量的

30.1%;6月上旬至7月下旬,主茎粗生长逐渐缓慢;在8月上旬至8月中旬,出现第二次增长高峰;8月中旬后增长量不大,9月上旬停止增长(韦霄等,1997)。黄花蒿整个生育期约240d,开花期为8月上旬至9月下旬,10月上旬果形成,10月中旬种子成熟,11月份为枯萎期。

黄花蒿整个生长发育期,叶片的N、P、K、Ca、Mg营养元素的含量是N、K>Ca>P、Mg。叶片从幼苗期到种子成熟期,N、K的含量总的变化趋势是逐渐下降。在幼苗期,叶片的N、K素营养含量为最高。黄花蒿根、叶的干物质变化较为平缓,根的干物质积累量达到最高的时期是7、8月下旬,叶的干物质积累量达到最高的时期是7月下旬。茎的干物质变化幅度很大,茎的干物质积累量达到最高的时期是8月下旬。

栽培黄花蒿的最大净光合速率(P_{max})、光饱和点(LSP)和表观量子效率(AQY)均较高,分别达 $22.38 \pm 0.68 \mu\text{molm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, $1564 \pm 15 \mu\text{molm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $0.075 \pm 0.002 \mu\text{mol} \mu\text{mol}^{-1}$;光补偿点(LCP)较低,达 $18.10 \pm 0.85 \mu\text{molm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。黄花蒿的光合能力强,能够利用很高的光强,且对弱光的适应性也较强。强的光合能力有利于黄花蒿的生长,在人工栽培黄花蒿的过程中应选择阳光充足的开阔生境(王满莲等,2007)。

3.4 黄花蒿繁殖操作规程

采用种子繁殖和组织培养两种方式培育。(1)采种和种子处理。于10月中旬以后采收,晒干或阴干,除去茎、叶,然后用1 mm细筛过筛,置于通风干燥处或低温(3~6℃)贮藏。(2)播种期。黄花蒿从采收后12月至次年4月底都可播种。但1月中旬至2月中旬是播种的最佳时期。(3)直播。一般采用条播,条距20~40 cm,沟深约1~2 cm。播种量为40~80 g/亩。种子与细沙混匀后,均匀撒在沟内,然后盖上一层薄土,盖土以不见种子为度。种子撒播后,要及时淋水,并注意淋水,保持湿润。(4)育苗。苗床宜选在地势较高、有水源、灌排方便、背风向阳的地方。播种基质可选用砂壤土或草皮灰,施足农家肥。将选好的地深翻打碎后起畦,畦高20~25 cm,宽1.2 m,长因地制宜,畦间隔50 cm。每1 m²施经腐熟的有机肥2 kg和过磷酸钙0.2 kg作基肥。将种子与草木灰或河砂混和,一般种沙比例为1:750,拌匀,用水撒湿畦面,然后将种灰或种沙匀撒畦面,再薄盖1层草木灰、细砂或细土,以遮住

种子为宜。用竹子做成拱棚, 盖上塑料薄膜, 四周用土压实即可。(5) 组织培养苗培育。黄花蒿幼叶、茎段、花序等不同外植体均能诱导形成愈伤组织, 其中叶比茎、花序更为容易, 培养 5~10 d 后, 开始长出愈伤组织, 而茎和花序分别需要 2 周、4 周才开始形成愈伤组织。培养基 MS+6-BA1.0 mg/L+IBA0.1 mg/L、MS+6-BA0.5 mg/L+IBA0.1 mg/L 和 MS+NAA0.1 mg/L+IBA 0.5 mg/L 可分别用于黄花蒿组培快繁的芽诱导、增殖和生根培养, 增殖倍数为 5.5 倍/20 d, 生根率 98.3%。培养基 MS+CCC1.0 mg/L、MS+CCC2.0 mg/L、MS+PP₃₃₃ 4.0 mg/L 可用作离体保存。(6) 苗地管理。淋水: 保持土壤湿润, 播种后一般是一个星期淋水 2~3 次。除草: 坚持除早、除了, 减少杂草争夺水分和养分。施肥: 在苗生长期可适当施用复合肥、充分腐熟的粪水或麸水。间苗和除草: 25 d 左右太密的要间苗、除草。在苗过密处, 疏除小苗、弱苗, 保留长势良好的壮苗。一般留苗数量以 400~500 株/m² 为宜。炼苗: 待株高 5~10 cm 时应开始炼苗。天气晴朗时白天打开膜让其适应外界环境, 炼苗后一个星期便可移栽。

3.5 黄花蒿苗移栽定植操作规程

3.5.1 选地整地 选择阳光充足、土壤较深厚、质地疏松, 保水保肥性强的沙壤或粘壤土种植。将土壤深翻 20~30 cm, 翻后打碎土块, 除去石块、树枝、杂草。开沟起畦, 畦宽 100~120 cm, 畦高 20 cm, 畦长 2 000~3 000 cm, 畦沟宽 20 cm。畦东西向、种植南北向为最佳。

3.5.2 基肥施用 使用腐熟农家肥、草皮灰、垃圾肥等, 每亩 2 000~3 500 kg, 再加 25~35 kg 钙镁磷肥。

3.5.3 定植 当苗床的苗出现 4 处真叶(苗高约 15~25 cm) 以上时即可以进行移栽。在广西定植时间在 3 月进行为好。种植密度一般株距 20~50 cm, 行距 20~50 cm。移栽时培土以刚覆盖根颈部即可, 每穴栽 1 株苗, 灌足定根水。

3.5.4 田间管理 (1) 灌溉与排水: 幼苗期(6 片真叶前) 的水分管理尤其重要, 土壤干旱或水分过多都影响正常生长, 土壤过干, 影响黄花蒿的生长, 植株生长量小, 应及时灌溉。如遇长期干旱, 可结合追肥进行浇水。黄花蒿耐涝能力较弱, 田间积水容易引起烂根, 特别连绵雨季地要注意及时排水。(2) 查苗补苗: 移栽后的前两个星期, 应定期检查移栽苗的成活情况, 出现缺苗断垄的情况, 及时进行补苗。(3)

松土、除草: 在没有封行前要注意中耕除草, 一般在追肥前进行。(4) 打顶: 当苗高长到 40 cm 左右时, 进行打顶摘心, 一般摘去顶尖 3~4 cm。(5) 追肥: 在苗期和生长盛期各追肥 1 次, 以施水肥为主, 即 4 月上旬施一次尿素加过磷酸钙; 5 月下旬追施一次复合肥。尿素浓度为 0.4%, 过磷酸钙为 1%, 复合肥为 0.4%~0.5%。(6) 病虫害防治: 黄花蒿主要的病虫害有茎腐病、猝倒病、桃蚜、小地老虎、菊瘿蚊等(梁惠凌等, 2007)。猝倒病: 幼苗出土后遭受病菌侵染, 茎基部发生水渍状暗斑, 继续绕茎扩展, 逐渐缢缩呈细线状, 致使幼苗地上部因失去支撑力而倒伏地面。3 月初开始发病。防治方法: 避免苗床土壤过湿, 苗床内保证较充足的光照以及良好的通风条件。58% 甲霜灵锰锌 400 倍对苗期猝倒病有很强的抑制作用。茎腐病: 初期部分枝叶出现萎蔫, 后期整株萎蔫, 叶子保持绿色, 不落叶, 拔起整株可见根皮变黑, 易脱落。剪开茎部, 木质部变黑, 严重的韧皮部也变黑。防治方法: ①用 50% 代森锰锌可湿性粉剂撒施, 耙入定植土中, 进行土壤灭菌消毒。②每 15 d 喷药 1 次, 连喷 2~3 次。可采用 95% 精制恶霉灵可湿性粉剂+70% 代森锰锌可湿性粉剂 1:1 复配 1 000 倍液, 95% 精制恶霉灵可湿性粉剂+50% 多菌灵可湿性粉剂 1:1 复配 1000 倍液进行药剂防治。小地老虎: 发生高峰期在 3 月中旬左右, 地老虎取食青蒿幼苗时首先咬断幼苗茎基部, 但不拖入穴中, 垆面可见残缺不全的幼苗。小地老虎只取食幼嫩小苗。防治方法①农业防治: 冬季注意清园, 春季起垄时撒石灰粉。②化学防治: 用 40% 辛硫磷乳油 1 000 倍液、48% 乐斯本乳 1 500 倍液、21% 增效氰·马乳油 2 000 倍液喷雾处理。菊瘿蚊(*Diarthronomyia chrysanthemi* Ahlberg): 虫瘿初见在 4 月, 5~8 月都可见白色蛹壳脱在虫瘿口。幼虫在组织内取食, 并刺激组织膨大呈虫瘿。在广西 6 月是菊瘿蚊发生发展高峰期。防治方法: 黄花蒿生长季节时勤观察, 发现虫瘿及时摘除, 集中销毁。成虫期喷洒 40% 氧化乐果 1 000 倍稀释液。

3.6 采收与加工

黄花蒿以初蕾期采收最为适宜, 此时其产量和青蒿素产量均较高。在广西于 8 月上旬~9 月上旬采收。采收时应选在大晴天, 中午开始收割最好。将主秆砍倒, 倒竖在原地晒半天, 然后再移至晒场晒干。第二天打落其叶子花蕾, 去除茎干, 将叶子花蕾包装好, 放于通风阴凉处保存。

3.7 质量标准及监测

根据《中华人民共和国药典》、企业标准和购销合同等有关标准,按每批件数的1%随机抽检样品。来源于黄花蒿的叶。

3.7.1 显微鉴别 叶片表面观表皮细胞形状不规则,垂周壁波状弯曲,长 $18\sim 41\sim 80\ \mu\text{m}$;脉脊上的表皮细胞为窄长方形,气孔不定式。密布丁字毛,中脉尤多,具多细胞柄部及两端不对称的单细胞臂部;柄细胞短小,3~10个,多为4~5个,基部细胞常膨大,顶端细胞萎缩,其细胞壁薄并皱缩;壁细胞长 $240\sim 480\sim 816\ \mu\text{m}$,在中脉附近其臂部常脱落,只留下多细胞柄部。腺毛密布,为多细胞无柄腺毛,腺头呈椭圆形,充满淡黄色挥发油,两个半圆形分泌细胞的排列方向一般与中脉平行(郑虎占等,1997)。

3.7.2 药材质量标准 水分:按GB5009.3-85中第一法测定,未超过10%;总灰分:按GB5009.4-85规定测定,未超过7%;酸不溶性灰分:按GB8308-87规定测定,未超过0.9%;青蒿素含量测定:采用柱前衍生RP-HPLC法测定青蒿素的含量(刘金磊等,2007)。

3.7.3 重金属限量指标 铅(Pb)按GB/T 5009.12-1996规定测定;铅(Pb) $\leq 2.49\ \text{mg/kg}$ 。镉(Cd)按GB/T 5009.15-1996规定测定;镉(Cd) $\leq 0.2\ \text{mg/kg}$ 。砷(As)按GB/T 5009.11-1996规定测定;砷(As) $\leq 0.6\ \text{mg/kg}$ 。汞(Hg)按GB/T 5009.17-1996规定测定;汞(Hg) $\leq 0.2\ \text{mg/kg}$ 。铜(Cu)按GB/T 5009.17-1996规定测定;铜(Cu) $\leq 18.2\ \text{mg/kg}$ 。

3.7.4 农药残留限量指标 有机氯农药残留量按GB/T 5009.19-1996规定测定;六六六(BHC) $\leq 0.1\ \text{mg/kg}$ 。滴滴涕(DDT) $\leq 0.1\ \text{mg/kg}$ 。五氯硝基苯(PCNB) $\leq 0.1\ \text{mg/kg}$ 。艾氏剂 $\leq 0.02\ \text{mg/kg}$ 。

3.8 文件和档案记录

对基地的大气、水源、土壤分析资料、种子来源、栽培管理、农药和化肥施用量、质检报告等均应有详细记录。

3.9 包装、储藏及运输

包装:包装材料多用聚乙烯、麻袋、编织袋、塑料尼龙等,但以编织袋包装为好。按50 kg为一包装单位;产品标志使用GAP绿色标志,注明“GAP产品”。每件包装上应标明:品名、规格、等级、净重、毛重、批号、生产单位、执行标准、采收时间和包装日期、质量检验合格证等。储藏:黄花蒿干叶应存放于

专用的仓库中。仓库必须保持阴凉、干燥、通风、避光、防虫。仓库内空气湿度为50%~60%最佳。库房应有专人管理,并进行定期检查。运输:运输中要注意运输车辆应有防雨、防潮、防污染的条件,运输工具必须清洁。在运输时采用单项装运,不得与化肥、农药等其他有毒有害物质混装。运输时保持干燥,并设有防雨、防晒和防潮措施。商品运到交货地点后,应立即卸车交货,并完善货物交接手续。

参考文献:

- 中华人民共和国药典委员会. 2005. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社
- 郑虎占,董泽宏,余靖. 1997. 中药现代化研究与应用[M]. 北京:学苑出版社
- Li F(李锋),Wei X(韦霄),Xu CQ(许成琼),*et al.* 1997. The investigation on the forms of *Artemisia annua* in Guangxi(广西黄花蒿类型调查研究)[J]. *Guihaia*(广西植物),17(3):231-234
- Liu JL(刘金磊),Li DP(李典鹏),Wei X(韦霄),*et al.* 2007. Determination of artemisinin in *Artemisia annua* with RP-HPLC(黄花蒿中青蒿素含量的RP-HPLC法测定)[J]. *Guihaia*(广西植物),27(5):808-810
- Liang HL(梁惠凌),Wei X(韦霄),Tang H(唐辉),*et al.* 2007. Investigation and controlling measure of main diseases and pests on *Artemisia annua*(黄花蒿主要病虫害调查及防治措施)[J]. *J Chin Med Mat*(中药材),30(11):1349-1352
- Wang ML(王满莲),Wei X(韦霄),Jiang YS(蒋运生),*et al.* 2007. Responses of net photosynthetic rate to light intensity and CO₂ concentration in leaves of wild and cultivar *Artemisia annua*(野生与栽培黄花蒿净光合速率对光强和CO₂浓度的响应)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报),15(1):45-49
- Wang SG(王三根),Liang Y(梁颖). 2003. The ecological and physiological character of *Artemisia annua* and its comprehensive utilization(中药青蒿的生态生理及其综合利用)[J]. *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源),22(4):47-49
- Wei JQ(韦记清),Wei X(韦霄),Jiang YS(蒋运生),*et al.* 2005. High-yield cultivation techniques for *Artemisia annua*(黄花蒿高产栽培技术)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学),36(5):472-473
- Wei X(韦霄),Li F(李锋),Xu CQ(许成琼),*et al.* 1997. Study on biological characteristics of *Artemisia annua*(黄花蒿生物学特性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物),17(2):166-168
- Wei X(韦霄),Li F(李锋),Xu CQ(许成琼),*et al.* 1999. The effect of different cultivation measures on yield and artemisinin content *Artemisia annua*(不同栽培措施对黄花蒿产量和青蒿素含量的影响)[J]. *J Guangxi Academy Sci*(广西科学院学报),15(3):132-136
- Yang SP(杨水平),Yang X(杨宪),Huang JG(黄建国),*et al.* 2004. Advances in researches on Artemisinin production(青蒿素生产研究进展)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报),12(2):189-194