

## 浙江省中南山区林下三叶青高效栽培技术模式筛选及评价

韩素芳<sup>1</sup>, 梁君瑛<sup>2</sup>, 冯博杰<sup>3</sup>, 程诗明<sup>1</sup>, 王宗星<sup>2</sup>, 吴英俊<sup>4</sup>

(1. 浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023; 2. 浙江省航空护林管理站, 浙江 杭州 310020; 3. 浙江省林业技术推广总站, 浙江 杭州 310020; 4. 遂昌县生态林业发展中心, 浙江 遂昌 323300)

**摘要:** 为研究三叶青 *Tetrastigma hemsleyanum* 在浙江省的最佳栽培技术模式, 以江西上饶种源为对照, 采用4个试验种源(温州种源、金华种源、衢州种源和丽水种源)、4种栽培方式(地栽、下铺无纺布地栽、无纺布袋及控根容器)及4种基质(油茶林下腐殖土、40%专用基质+60%黄心土、30%锯末+60%黄心土+10%石砾、菜地土+10%草木灰)在浙江遂昌(试验地Ⅰ)、云和(试验地Ⅱ)及永康(试验地Ⅲ)分别设置3个试验地进行油茶 *Camellia oleifera* 林下仿野生栽培多点试验, 利用正交试验设计17个技术处理结合方差分析对4年生三叶青块根产量及总黄酮含量进行综合评价, 筛选适合浙江省的林下栽培技术模式。结果表明, 在试验地Ⅰ和试验地Ⅱ土壤基质对单株块根鲜质量影响最大, 而在试验地Ⅲ栽培方式对单株块根鲜质量影响最大; 3个试验地均表现为种源对块根总黄酮含量影响最大; 针对单株块根鲜质量, 金华种源、控根容器栽培方式或无纺布袋栽培方式(无显著差别)、40%专用基质+60%黄心土栽培基质表现最佳; 针对块根总黄酮含量, 丽水种源、地栽方式、菜地土+10%草木灰栽培基质表现最佳。

**关键词:** 三叶青; 栽培模式; 种源; 基质; 总黄酮

中图分类号: S61 文献标识码: A 文章编号: 1001-3776(2023)03-0021-09

### Selecting and Evaluation of Cultivation Patterns for *Tetrastigma hemsleyanum* under *Camellia oleifera* in the Central and Southern Zhejiang Province

HAN Su-fang<sup>1</sup>, LIANG Jun-ying<sup>2</sup>, FENG Bo-jie<sup>3</sup>, CHENG Shi-ming<sup>1</sup>, WANG Zong-xing<sup>3</sup>, WU Ying-jun<sup>4</sup>

(1. Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, China; 2. Zhejiang Aerial Forest Protection Administration, Hangzhou 310020; 3. Zhejiang Forestry Extension Administration, Hangzhou 310020; 4. Suichang Eco-forestry Development Center of Zhejiang, Suichang 323300, China)

**Abstract:** In April 2017, 1-year *Tetrastigma hemsleyanum* cuttings of different provenances such as Zhejiang Wenzhou, Zhejiang Jinhua, Zhejiang Quzhou and Zhejiang Lishui were planted under *Camellia oleifera* stand in Suichang, Yunhe and Yongkang of Zhejiang province with 4 cultivation patterns like field cultivation, field cultivation with non-woven fabrics at the bottom of ditch, cultivation in non-woven bag and cultivation in root control container, and with 4 substrates like humus soil under *C. oleifera* stand, 40% special matrix+60% yellow soil, 30% sawdust+60% yellow soil +10% gravel, vegetable soil+10% ash. Orthogonal design was used for the experiment. In December 2019, root tubers of random 10 individuals of each treatment (provenance of Jiangxi Shangrao as CK) were harvested to determine their fresh weight and total flavonoids content. The results showed that the soil substrate had the strongest effect on the individual fresh weight of root tubers in Suichang and Yunhe, while the cultivation pattern had the strongest effect on the fresh weight of individual root tubers in Yongkang. The provenance had the greatest influence on the total

收稿日期: 2022-12-03; 修回日期: 2023-03-16

基金项目: 浙江省自然科学基金(LQ18C160005); 浙江省科研院所专项(2021F1065)

作者简介: 韩素芳, 副研究员, 从事林下中药材栽培技术研究; E-mail: hansufang2004@126.com。通信作者: 吴英俊, 高级工程师, 从事林业技术研究及推广; E-mail: scxwyj@163.com。

flavonoids content of root tubers in three experimental sites. Seedlings of Zhejiang Jinhua provenance cultivated by root control container or non-woven bag with 40% special substrate+60% yellow soil had good effect in the three sites. Seedlings of Zhejiang Lishui provenance, field cultivation by non-woven bag, humus soil+10% ash had the greatest total flavonoid content under *C. oleifera*.

**Key words:** *Tetrastigma hemsleyanum*; cultivation pattern; provenance; substrate; total flavonoid

三叶青, 学名三叶崖爬藤 *Tetrastigma hemsleyanum*, 属葡萄科 Vitaceae 崖爬藤属 *Tetrastigma* 植物, 为民间常用传统中草药<sup>[1]</sup>, 广泛分布于我国浙江、江苏、江西、福建、台湾、广东、广西、湖北、湖南、四川、贵州、云南、西藏等地<sup>[2-3]</sup>。三叶青生长期为 3~4 a, 全草均可入药, 主要药效部位为块根, 具有抗肿瘤、抗病毒、保护肝脏、抗炎镇痛等作用<sup>[4-5]</sup>, 在临床上已广泛用于抗肿瘤及小儿解热镇痛等, 由于其具有较强的抗菌消炎活性, 被称为“植物抗生素”<sup>[6-7]</sup>。随着三叶青用途和应用领域的扩大, 过度采挖导致三叶青野生资源蕴藏量急剧下降, 面临枯竭, 经样方调查推算浙江省三叶青野生资源蕴藏量仅约 13 760 kg<sup>[8]</sup>。野生资源的严峻形势引起了科研人员的持续关注, 在种质资源收集评价<sup>[9-11]</sup>、种苗繁育<sup>[12-14]</sup>及仿野生栽培<sup>[15-17]</sup>等方面进行了大量的研究, 不同种源三叶青生物学特征存在显著差异<sup>[18]</sup>, 不同区域土壤、气温、光照、水肥、病虫害、管理方式等的差异会对三叶青产量以及其主要有效成分黄酮含量造成显著影响<sup>[19-21]</sup>等研究结论为三叶青产业化发展提供了科学依据。

三叶青为浙江省近年产业化发展的重点中药材之一, 2018 年入选新“浙八味”<sup>[22]</sup>。目前, 浙江省三叶青仿野生人工种植基地主要集中在丽水、金华等地<sup>[8]</sup>。据笔者所在课题组统计, 截至 2020 年底, 浙江省林下仿野生栽培三叶青面积已逾 667 hm<sup>2</sup>。随着种植规模的不断扩大, 正式审定的品种少<sup>[8]</sup>; 针对环境条件、栽培基质、栽培方式等方面的栽培技术优化不深入<sup>[23]</sup>等导致的块根产量和品质不稳定问题凸显, 加强林下仿野生栽培技术系统研究, 成为三叶青可持续发展的迫切需求和有效途径。

种源、栽培方式和栽培基质是中药材栽培技术最重要的三要素。种源对中药材外观性状、产量和有效成分含量都有着较大的影响<sup>[24-25]</sup>。三叶青栽培方式目前主要有地栽和容器栽培两种。地栽作为传统的栽培方式有其不可忽视的优势。但为便于块根挖取和林下管理, 无纺布袋和控根容器在三叶青林下仿野生栽培中应用较为广泛<sup>[17,26]</sup>。土壤基质是三叶青块根生长的环境, 其重要性不可忽视。笔者所在研究团队根据三叶青生长特性研发出复配基质, 具有使三叶青成活率高、块根产量高的特点<sup>[25,27]</sup>。但目前尚未见文献对种源、栽培方式和栽培基质栽培技术体系进行优化的报道。为筛选出适合浙江省中南山区不同区域三叶青林下仿野生栽培种源-栽培方式-基质技术体系, 本研究选用 4 个浙江种源、4 种栽培方式及 4 种栽培基质, 以 2006 年实现人工栽培的江西上饶<sup>[28]</sup>种源为对照在浙江三叶青主产区建立油茶 *Camellia oleifera* 林下仿野生栽培试验地, 对栽培三年后三叶青块根产量及块根中总黄酮含量进行综合评价, 以期在三叶青良种选育和标准化栽培技术提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地设置

试验地油茶林位于浙江省遂昌县金竹镇叶村(试验地 I, 面积为 1.33 hm<sup>2</sup>, 地理位置为 119.13 E, 28.55 N)、云和县紧水滩镇大牛村(试验地 II, 面积为 0.67 hm<sup>2</sup>, 地理位置为 119.53 E, 28.23 N)和永康市舟山镇铜山村(试验地 III, 面积为 0.67 hm<sup>2</sup>, 地理位置为 120.24 E, 28.93 N), 油茶树龄 50~60 a。

### 1.2 试验仪器与材料

试验苗木采用一年生三叶青扦插苗。试验种源为浙江温州种源(龙游县林场)、浙江金华种源(金华市婺城区三叶青研究所)、浙江衢州种源(衢州市元创农业发展有限公司)、浙江丽水种源(遂昌县金竹镇叶村山茶油专业合作社); 对照为江西上饶种源(2012 年永康市林业技术推广中心引自江西省上饶市弋阳县并在永康市西溪镇进行扦插扩繁)。

试验容器和基质: 控根容器(直径 25 cm, 高 20 cm, 台州隆基塑业有限公司), 无纺布袋(直径 25 cm, 高 20 cm)和无纺布(宽 20 cm, 长度根据地形剪取)均购自安庆诚宇育苗材料有限公司; 专用基质、草木灰、

锯末均购自金华市婺城区三叶青研究所。

试验仪器: 紫外分光光度计 (UV1800, 岛津仪器设备有限公司)、百分之一的天平 (BSA822, 赛多利斯科学仪器有限公司)、烘箱 (GZX-9140MBE, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂)、中药粉碎机 (GX-03, 浙江高鑫工贸有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 采用  $L_{16}(4^3)$  正交试验设计, 见表 1。在每个试验地分别随机排列布置 16 个试验处理和 1 个对照处理, 并重复 3 次。试验于 2017 年 4 月至 2019 年 12 月进行。

表 1 三叶青栽培技术模式筛选试验  $L_{16}(4^3)$  正交表  
Tab. 1 Orthogonal design by  $L_{16}(4^3)$  for cultivation patterns of *T. hemsleyanum*

处理	种源 A		栽培方式 B		土壤基质 C	
	水平	种源	水平	栽培方式	水平	土壤基质
S1	A1	温州	B1	控根容器	C1	油茶林下腐殖土
S2	A1	温州	B2	无纺布袋	C2	40% 专用基质+60% 黄心土
S3	A1	温州	B3	下铺无纺布地栽	C3	30% 锯末+60% 黄心土+10% 石砾
S4	A1	温州	B4	地栽	C4	菜地土+10% 草木灰
S5	A2	金华	B1	控根容器	C2	40% 专用基质+60% 黄心土
S6	A2	金华	B2	无纺布袋	C1	油茶林下腐殖土
S7	A2	金华	B3	下铺无纺布地栽	C4	菜地土+10% 草木灰
S8	A2	金华	B4	地栽	C3	30% 锯末+60% 黄心土+10% 石砾
S9	A3	衢州	B1	控根容器	C3	30% 锯末+60% 黄心土+10% 石砾
S10	A3	衢州	B2	无纺布袋	C4	菜地土+10% 草木灰
S11	A3	衢州	B3	下铺无纺布地栽	C1	油茶林下腐殖土
S12	A3	衢州	B4	地栽	C2	40% 专用基质+60% 黄心土
S13	A4	丽水	B1	控根容器	C4	菜地土+10% 草木灰
S14	A4	丽水	B2	无纺布袋	C3	30% 锯末+60% 黄心土+10% 石砾
S15	A4	丽水	B3	下铺无纺布地栽	C2	40% 专用基质+60% 黄心土
S16	A4	丽水	B4	地栽	C1	油茶林下腐殖土
S17	对照	上饶		地栽		油茶林下腐殖土

1.3.2 整地及种植 通过对油茶进行整形修剪, 保持油茶林的遮荫度约为 70%。根据坡度和地形将油茶林地整理成 30 ~ 60 cm 宽的简易水平带做三叶青种植带。地栽和下铺无纺布地栽方式: 在种植带上挖沟, 沟深 15 ~ 20 cm, 宽 20 cm 左右, 沟长短根据地形而定, 沟内填满基质 (下铺无纺布地栽方式先将无纺布条铺在沟底再填满基质), 按株行距 30 cm × 40 cm 种植。控根容器和无纺布袋种植方式: 每容器装填约 4/5 容器体积基质, 每袋之间留空隙 5 ~ 10 cm, 每容器种植 2 株, 将容器半埋于土中。种植后压实种苗周围土壤, 浇足定根水, 不施肥<sup>[29]</sup>。

1.3.3 块根采集及分析 2019 年 12 月, 从每个处理随机选取 10 株, 采挖块根, 现场称量每株块根的总质量。将块根带回实验室, 用清水冲洗干净表层泥土杂质, 晾干表面水分, 于烘箱中 50 ℃ 烘干, 粉碎过 60 目筛后用于测定总黄酮含量。

1.3.4 总黄酮含量测定 精密称取三叶青块根粉末 0.5 g 于锥形瓶中, 加入 70 % 乙醇 10 mL, 称量, 于 50 ℃ 下超声提取 40 min, 补足失重。离心, 取上清液 2.0 L 定容至 10 mL。精密吸取 5 mL 样品溶液于 25 mL 比色管中, 依次加入 5 %  $\text{NaNO}_2$  溶液 1.0 L, 摇匀, 放置 6 min, 加 10 %  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  溶液 1.0 mL, 摇匀, 放置 6 min, 再分别加入  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaOH}$  溶液 10 mL, 定容至刻度, 摇匀, 静置 15 min, 于 510 nm 波长处测吸光度<sup>[30]</sup>。

标准曲线: 精密称取芦丁对照品 11.89 mg, 用甲醇溶解并定容至 25 mL, 备用。精密吸取对照品溶液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL 于 25 mL 容量瓶, 按样品操作, 测定吸光度, 绘制标准曲线。

1.3.5 数据处理方法 利用 Excel 对三个试验地三叶青块根鲜质量和块根总黄酮含量进行综合分析和极差分析; 用 SPSS 19.0 进行正交方差分析, 对组间差异显著的因素进行邓肯多重比较, 方差贡献率参照下述公式计算<sup>[31]</sup>:

方差贡献率(%) = 某因素的离差平方和 SS × 100 / (所有因素离差平方和 SS 之和 + 随机误差的离差平方和 SS)

2 结果与分析

2.1 综合分析

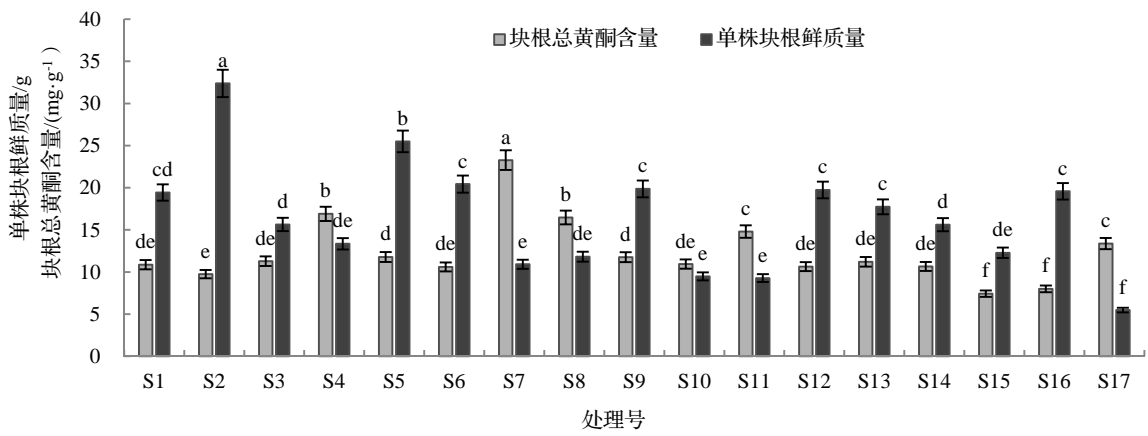
由表 2 可知,三个试验地单株块根鲜质量平均值最大的处理是 S2 (17.02 g),最小的处理为对照 S17 (6.70 g);块根总黄酮含量平均值最高的处理为 S16 (12.35 mg·g<sup>-1</sup>),最低的处理为 S9 (7.70 mg·g<sup>-1</sup>)。除了 S10,同一处理的单株块根鲜质量在不同试验地均呈极显著 ( $P<0.01$ )或显著差异 ( $P<0.05$ );除了 S14,同一处理的块根总黄酮含量在不同试验地均呈极显著 ( $P<0.01$ )或显著性差异 ( $P<0.05$ )。

表 2 三个试验地三叶青单株块根鲜质量及块根总黄酮含量					
Tab.2 Mean weight of fresh root tubers of single <i>T. hemsleyanum</i> with different treatment and total flavonoids content from different sites					
处理	单株块根鲜质量/g	块根总黄酮含量/(mg·g <sup>-1</sup> )	处理	单株块根鲜质量/g	块根总黄酮含量/(mg·g <sup>-1</sup> )
S1	12.17±5.14**	7.85±2.22**	S10	8.29±0.87	8.19±2.91**
S2	17.02±10.96**	8.02±1.82*	S11	6.82±2.78**	12.02±4.11**
S3	10.10±3.99**	8.90±1.84**	S12	10.99±6.70**	10.03±3.31**
S4	8.40±3.97*	10.50±2.43**	S13	12.64±3.83**	10.65±3.38*
S5	16.97±6.07**	11.19±2.89**	S14	8.82±4.87**	9.45±1.89
S6	14.19±4.81**	8.57±1.42**	S15	8.39±3.11**	9.16±4.72**
S7	7.46±3.41**	12.32±1.87**	S16	10.04±6.87**	12.35±3.71**
S8	9.09±2.75**	12.12±4.18**	S17	6.70±2.26**	10.00±3.97**
S9	10.69±6.50**	7.70±0.43**			

注: \*代表在不同试验地差异显著,  $P<0.05$ ; \*\*代表在不同试验地差异极显著,  $P<0.01$ ;下同。

2.2 试验地 I 试验结果

2.2.1 直观分析 从图 1 中可以看出,在试验地 I 中,17 个处理的三叶青单株块根鲜质量差异显著 ( $P<0.05$ ),其中, S2 处理的三叶青单株块根鲜质量最大 (32.38 g),比排第二位的 S5 处理多 26.99%,是对照 S17 的 5.90 倍,对照三叶青单株块根鲜质量最小,显著低于其他处理 ( $P<0.05$ );17 个处理三叶青块根的总黄酮含量同样差异显著 ( $P<0.05$ ),其中, S7 处理三叶青块根的总黄酮含量最高,比 S4 (第二位)和 S8 (第三位)处理分别高 37.73%和 41.32%,且差异均达显著水平 ( $P<0.05$ ),比对照 S17 处理高 74.09%,且三者与对照的差异均达显著水平 ( $P<0.05$ )。



注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ ), S17 表示对照处理,下同。

图 1 试验地 I 三叶青单株块根鲜质量和块根总黄酮含量比较

Fig. 1 Mean weight of fresh root tubers of single *T. hemsleyanum* with different treatment and total flavonoids content from site I

由表 3 极差分析结果可知,3 种因素对三叶青单株块根鲜质量的影响程度为  $C>B>A$ ,对块根总黄酮含量

的影响程度为 A>C>B。以上结果表明, 在试验地 I 中, 土壤基质对单株块根鲜质量影响最大, 种源对块根总黄酮含量影响最大。

2.2.2 方差分析 由表 4 可知, B、C 两个因素对三叶青单株块根鲜质量呈极显著影响 ( $P<0.01$ ), A 因素对单株块根鲜质量呈显著影响 ( $P<0.05$ ); 对单株块根鲜质量影响程度为 C>B>A, 其中方差贡献率最大的为 C 因素 (29.84%), 分别是 B、A 因素的 1.1 倍和 2.9 倍。A、B、C 三个因素对块根总黄酮含量均呈极显著影响 ( $P<0.01$ ), 3 个因素对块根总黄酮的影响程度为 A>C>B, 其中方差贡献率最大的为 A 因素 (32.60%), 分别是 C、B 因素的 1.1 倍和 2.4 倍。

表 3 试验地 I L <sub>16</sub> (4 <sup>3</sup> ) 正交试验极差分析结果 Tab.3 Range analysis on factors of site I		
因素	单株块根鲜质量/g	总黄酮含量/(mg·g <sup>-1</sup> )
A	5.61	6.21
B	8.60	3.71
C	9.60	5.68

表 4 试验地 I 正交试验方差分析结果  
Tab.4 ANOVA on orthogonal test in site I

指标	变异来源	SS	df	MS	F	显著性	方差贡献率/%
单株块根 鲜质量	A	198.804	3	66.268	3.962	*	10.17
	B	537.588	3	179.196	10.713	**	27.49
	C	583.543	3	194.514	11.629	**	29.84
	误差	635.607	38	16.727			
块根总黄酮 含量	A	232.659	3	77.553	17.777	**	32.60
	B	98.145	3	32.715	7.499	**	13.75
	C	217.065	3	72.355	16.585	**	30.42
	误差	165.781	38	4.363			

2.2.3 多重比较 由表 5 可知, 对单株块根鲜质量的影响, A1 极显著高于 A3 ( $P<0.01$ ), A1、A2、A4 无显著差别, 各水平排序依次为 A1>A2>A3>A4; B1、B2 极显著高于 B3 ( $P<0.01$ ), B1 显著高于 B4 ( $P<0.05$ ), B1 与 B2、B3 与 B4 无显著性差别, 各水平排序依次为 B1>B2>B4>B3; C2 极显著高于其他组别 ( $P<0.01$ ), C1、C3、C4 无显著性差别, 各水平排序依次为 C2>C1>C3>C4。

对块根总黄酮含量, A1、A2、A3 均极显著 ( $P<0.01$ ) 或显著 ( $P<0.05$ ) 高于 A4, A1 与 A3 无显著性差别, 各水平排序依次为 A2>A1>A3>A4; B3 显著高于 B1 ( $P<0.05$ )、极显著高于 B2 ( $P<0.01$ ), B4 显著高于 B2 ( $P<0.05$ ), B3 与 B4 无显著性差别, B1 与 B2 无显著性差别, 各水平排序依次为 B3>B4>B1>B2; C4 极显著高于其他组别 ( $P<0.01$ ), C1、C2 及 C3 无显著性差别, 各水平排序依次为 C4>C3>C1>C2。

表 5 试验地 I 正交试验结果多重比较  
Tab.5 Multiple comparison on orthogonal test results of site I

指标	因素A				因素B				因素C			
	水平	Ai-A1	Ai-A2	Ai-A3	水平	Bi-B1	Bi-B2	Bi-B3	水平	Ci-C1	Ci-C2	Ci-C3
单株块根 鲜质量	A2	-3.03			B2	-1.16			C2	5.29*		
	A3	-5.61**	-0.60		B3	-8.60**	-7.45**		C3	-1.45	-6.74**	
	A4	-3.90	-1.68	-1.08	B4	-4.51*	-3.35	4.09	C4	-4.31	-9.60**	-2.86
块根 总黄酮	A2	3.34**			B2	-0.92			C2	-1.17		
	A3	-0.16	-3.50**		B3	2.79*	3.71**		C3	1.47	2.64*	
	A4	-2.87**	-6.21**	-2.71*	B4	1.60	2.52*	-1.20	C4	4.51**	5.68**	3.04**

注: i=2~4, 下同。

2.3 试验地 II 正交试验结果

2.3.1 直观分析 从图 2 可以看出, 在试验地 II 中, 17 个处理间的三叶青单株块根鲜质量差异显著 ( $P<0.05$ ), 其中 S5 单株块根的鲜质量最大, 与 S2 差异不显著, 与其他处理均差异显著 ( $P<0.05$ ), 比对照 S17 多 20.95%, S9、S14 和 S16 单株块根鲜质量较低, 显著低于对照及其他处理 ( $P<0.05$ ); 17 个处理块根三叶青总黄酮含量差异显著 ( $P<0.05$ ), 其中 S16 块根总黄酮含量最高 (13.48 mg·g<sup>-1</sup>), 比 S13 (第二位) 和对照 S17 (第三位) 分别高出 11.75% 和 15.28%, 且与二者均达显著差异 ( $P<0.05$ ), 其余处理均显著低于对照 S17 ( $P<0.05$ )。

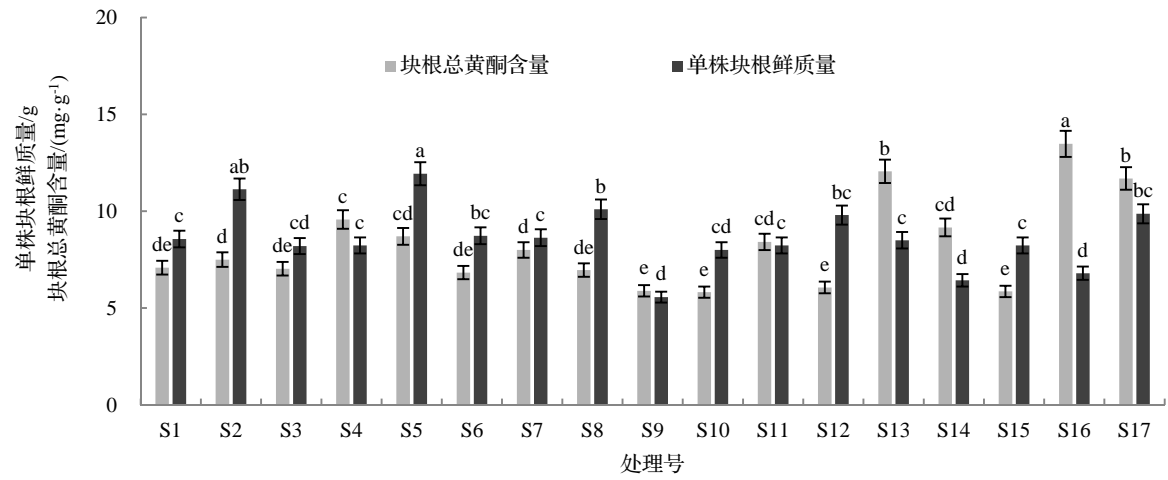


图 2 试验地 II 三叶青单株块根鲜质量和块根总黄酮含量

Fig. 2 Mean weight of fresh root tubers of single *T. hemslayanum* with different treatment and total flavonoids content from site II

从表 6 可以看出, 3 种因素对单株块根鲜质量影响程度为 C>A>B, 土壤基质因素对单株块根鲜质量影响最大, A、B 因素的影响程度与试验地 I 存在差异; 对总黄酮含量影响程度为 A>C>B, 种源因素对总黄酮含量影响最大, 与试验地 I 一致。

2.3.2 方差分析 由表 7 可知, A、C 两个因素对单株块根鲜质量影响程度极显著 ( $P<0.01$ ), B 因素对单株块根鲜质量无显著影响; 方差贡献率最大的为 C 因素 (35.75%), 分别是 A、B 因素的 1.2 倍和 45.6 倍, 对单株块根鲜质量的影响程度依次为 C>A>B。A、C 两个因素对单株块根总黄酮含量影响程度极显著 ( $P<0.01$ ), B 因素对块根总黄酮含量影响程度显著 ( $P<0.05$ ), 方差贡献率最大的为 A 因素 (34.29%), 分别是 C、B 因素的 2.2 倍和 3.2 倍, 3 个因素对块根总黄酮含量的影响程度依次为 A>C>B。

表 6 试验地 II L <sub>16</sub> (4 <sup>3</sup> ) 正交试验极差分析结果		
Tab.6 Range analysis on factors of site II		
因素	单株块根鲜质量/g	总黄酮含量/(mg·g <sup>-1</sup> )
A	1.54	3.59
B	0.41	1.69
C	2.70	1.83

表 7 试验地 II 正交试验方差分析结果							
Tab. 7 ANOVA on orthogonal test in site II							
指标	变异来源	SS	df	MS	F	显著性	方差贡献率/%
单株块根鲜质量	A	1 039.43	3	346.48	11.06	**	29.59
	B	27.56	3	9.19	0.29		0.78
	C	1 255.81	3	418.60	13.36	**	35.75
	误差	1 190.28	38	31.32			
块根总黄酮含量	A	82.42	3	27.47	11.01	**	34.29
	B	25.53	3	8.51	3.41	*	10.62
	C	37.60	3	12.53	5.02	**	15.64
	误差	94.80	38	2.49			

2.3.3 多重比较 试验地 II 正交试验多重比较结果见表 8。

表 8 试验地 II 正交试验结果多重比较												
Tab.8 Multiple comparison of orthogonal test of site II												
指标	因素 A				因素 B				因素 C			
	水平	Ai-A1	Ai-A2	Ai-A3	水平	Bi-B1	Bi-B2	Bi-B3	水平	Ci-C1	Ci-C2	Ci-C3
单株块根 鲜质量	A2	4.08							C2	10.96**		
	A3	- 5.67	- 9.75**						C3	- 2.54	- 13.50**	
	A4	- 7.71**	- 11.79**	- 2.04					C4	1.29	- 9.67**	3.83
块根 总黄酮	A2	- 0.17			B2	- 1.11			C2	- 1.92*		
	A3	- 1.25	- 1.08		B3	- 1.11	0		C3	- 1.69	0.23	
	A4	2.34**	2.52**	3.59**	B4	0.58	1.69*	1.69*	C4	- 0.09	1.83*	1.60

由表 8 可知, 对单株块根鲜质量的影响, A1 极显著高于 A4 ( $P<0.01$ ), A2 极显著高于 A3 及 A4 ( $P<0.01$ ),

A1 与 A2、A3 与 A4 无显著性差异, 各水平排序依次为 A2>A1>A3>A4; B 因素对块根鲜质量无显著影响, 不做多重比较。C2 极显著高于其他组别 ( $P<0.01$ ), C1、C3 及 C4 无显著性差别, 各水平排序依次为 C2>C4>C1>C3。对块根总黄酮含量影响, A4 极显著高于其他三个因子 ( $P<0.01$ ), A1、A2、A3 之间无显著性差别, 各水平排序依次为 A4>A1>A2>A3; B4 显著高于 B2 及 B3 ( $P<0.05$ ), B4 与 B1 无显著性差别, 各水平排序依次为 B4>B1>B2>B3; C1、C4 显著高于 C2 ( $P<0.05$ ), C1 与 C4、C2 与 C3 无显著性差别, 各水平排序依次为 C1>C4>C3>C2。

2.4 试验地Ⅲ正交试验结果

2.4.1 直观分析 从图 3 可以看出, 在试验地Ⅲ中, 17 个处理间的三叶青单株块根鲜质量差异显著 ( $P<0.05$ ), 其中 S5 三叶青单株块根鲜质量最大 (13.47 g), 与 S6、S13 差异不显著, 是 S17 对照的 2.84 倍, 且三者与其他处理均差异显著 ( $P<0.05$ ); S4、S7、S11、S12、S16 三叶青单株块根鲜质量较低, 与对照差异不显著 ( $P>0.05$ )。17 个处理三叶青的块根总黄酮含量差异同样显著 ( $P<0.05$ ), S16 处理三叶青块根总黄酮含量最高 ( $15.58\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ), 与 S15 差异不显著 ( $P>0.05$ ), 是 S17 对照的 3.15 倍, 且二者与其他处理均差异显著 ( $P<0.05$ ); S1、S2、S4、S7、S9 与对照总黄酮含量差异不显著。

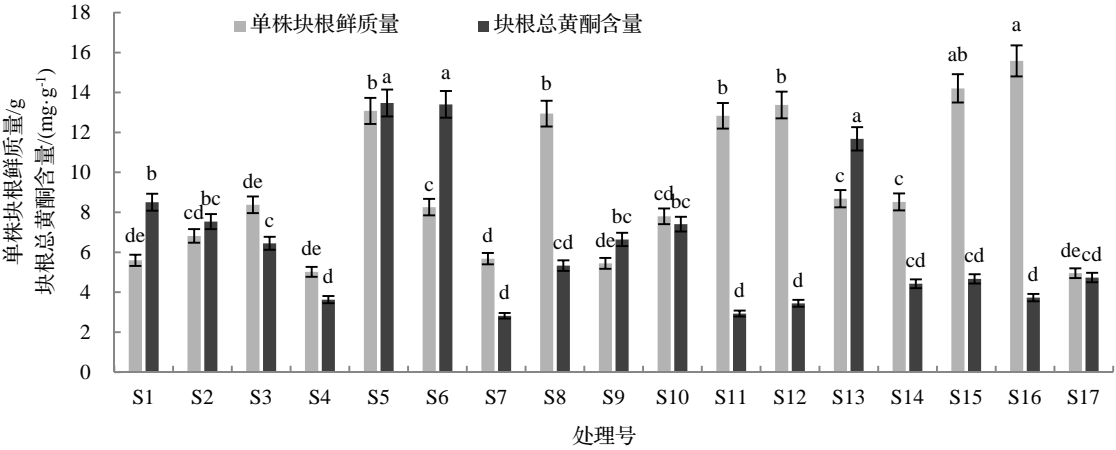


图 3 试验地Ⅲ三叶青单株块根鲜质量和块根总黄酮含量  
Fig. 3 Mean weight of fresh root tubers of single *T. hemsleyanum* with different treatment and total flavonoids content from site III

从表 9 可以看出, 在试验地Ⅲ中, 3 种因素对单株块根鲜质量的影响程度是 B>A>C, 与试验地Ⅰ、Ⅱ均不一致; 对总黄酮含量影响程度是 A>C>B, 与试验地Ⅰ、Ⅱ均一致。因素 B 对试验地Ⅲ三叶青单株块根鲜质量影响最大, 因素 A 对总黄酮含量影响最大。

2.4.2 方差分析 由表 10 可知, A、B 两个因素对单株块根鲜质量影响程度极显著 ( $P<0.01$ ), C 因素对单株块根鲜质量无显著影响; 对单株块根鲜质量的影响程度依次为 B>A>C; 方差贡献率最大的为 B 因素 (51.92%), 分别是 A、C 因素的 3.8 倍和 16.9 倍。3 个因素对单株块根总黄酮含量影响程度极显著 ( $P<0.01$ ), 对块根总黄酮含量的影响程度依次为 A>C>B, 方差贡献率最大的为 A 因素 (51.92%), 分别是 C、B 因素的 0.7 倍和 1.5 倍。

2.4.3 多重比较 由表 11 结果显示, 对单株块根鲜质量的影响, A2 极显著高于 A3 ( $P<0.01$ )、显著高于 A4 ( $P<0.05$ ), A1 与 A2、A3 与 A4 无显著性差异, 各水平排序依次为 A2>A1>A4>A3; B1 和 B2 均极显著高于 B3、B4 ( $P<0.01$ ), B1、B2 无显著性差异, 各水平排序依次为 B1>B2>B3>B4; C 因素对单株块根鲜质量无显著影响, 不做多重比较。对块根总黄酮含量的影响, A2、A3、A4 之间无显著性差别, 但均极显著高于 A1 ( $P<0.01$ ), 各水平排序依次为 A4>A2>A3>A1; B4 极显著高于 B1、B2 ( $P<0.01$ ), B3 显著高于 B2 ( $P<0.05$ ), B3 与 B1 无显著性差异, 各水平排序依次为 B4>B3>B1>B2; C1、C2 均极显著高于 C4, C1 与 C2 无显著性差异, 各水

表 9 试验地Ⅲ L <sub>16</sub> (4 <sup>3</sup> ) 正交试验极差分析结果		
Tab.9 Range analysis of factors in site III		
种类	单株块根鲜质量/g	总黄酮含量/(mg·g <sup>-1</sup> )
A	3.65	5.30
B	6.04	3.88
C	1.57	5.07

平排序依次为 C2>C1>C3>C4。

表 10 试验地Ⅲ正交试验方差分析结果  
Tab.10 ANOVA on orthogonal test in site III

指标	变异来源	SS	df	MS	F	显著性	方差贡献率/%
单株块根鲜质量	A	85.350	3	28.450	5.570	**	13.75
	B	322.298	3	107.433	21.034	**	51.92
	C	19.046	3	6.349	1.243		3.07
	误差	194.091	38	5.108			
块根总黄酮含量	A	176.448	3	58.816	16.082	**	28.95
	B	119.841	3	39.947	10.923	**	19.66
	C	174.281	3	58.094	15.884	**	28.59
	误差	138.977	38	3.657			

表 11 试验地Ⅲ正交试验结果多重比较  
Tab.11 Multiple comparison on orthogonal test of site III

指标	因素A				因素B				因素C			
	水平	Ai-A1	Ai-A2	Ai-A3	水平	Bi-B1	Bi-B2	Bi-B3	水平	Ci-C1	Ci-C2	Ci-C3
块根鲜质量	A2	2.23			B2	-1.88			C2			
	A3	-1.42	-		B3	-5.86**	-3.97**		C3			
	A4	-0.41	-	1.02	B4	-6.04**	-4.16**	-0.18	C4			
块根总黄酮	A2	3.54**			B2	-0.35			C2	1.30		
	A3	3.41**	-0.13		B3	2.07	2.43*		C3	-1.75	-	
	A4	5.29**	1.76	1.88	B4	3.53**	3.88**	1.46	C4	-3.77**	-	-

3 讨论

同一处理的单株块根产量和总黄酮含量在不同试验地存在显著差异，说明环境因素对三叶青具有显著的影响。在海拔 413 ~ 618 m 范围内，三叶青总黄酮含量与海拔呈极显著正相关<sup>[32]</sup>；不同产地三叶青总黄酮及多糖含量存在显著差异<sup>[33]</sup>，本研究结论与之相符。区域试验是品种选育的必要环节，目前尚未见文献对三叶青种源、栽培方式及基质进行多点重复试验。通过对不同试验地的直观分析、方差分析及多重比较可知，影响三叶青单株块根鲜质量的因素存在区域化差异，但是影响三叶青总黄酮含量的主导因素均为种源，金华种源和丽水种源优于衢州种源和温州种源。金华种源在三个试验地均可作为首选种源，与其他种源相比其三叶青单株块根鲜质量更大，总黄酮含量更高，说明其适应区域范围较广，可在浙中南山区进行广泛应用。丽水种源在试验地Ⅰ表现为单株块根鲜质量指标较佳，而块根总黄酮含量显著低于其他种源；在试验地Ⅱ则表现为单株块根鲜质量显著低于金华种源，而块根总黄酮含量显著高于其他三个种源；在试验地Ⅲ表现为单株块根鲜质量显著低于金华种源，而块根总黄酮含量与金华种源无显著差别。种源对于中药材外观性状、农艺指标、药材质量和有效成分的含量都有着较大的影响，所以在三叶青的栽培过程中切忌盲目选择种源，应根据立地条件进行合理选择。

三叶青块根吊于细长的须根，挖取时须根易断，加之块根颜色与土壤颜色接近，造成地栽易漏采块根，挖取费时费工。且由于林下立地条件的限制，目前三叶青林下仿野生栽培多采用容器栽培。从本研究结果可以看出，控根容器普遍适用于三个试验地，无论是块根鲜质量还是块根总黄酮含量均处于较高水平。控根容器可为三叶青根系提供一个体积可控的环境，达到“空气切割”的作用，解除根尖优势，刺激侧根的生长和块根的形成<sup>[8]</sup>。但由于控根容器价格较高，是相同直径无纺布袋的数十倍，因此无纺布袋在浙江省三叶青栽培中应用更为广泛。本研究中无纺布袋在试验地Ⅰ块根鲜质量和总黄酮含量与控根容器无显著性差别，而在试验地Ⅱ块根总黄酮含量显著低于控根容器，在试验地Ⅲ块根鲜质量与控根容器无显著性差别，而块根总黄酮含量显著低于控根容器，因此在使用无纺布袋时应更加注意基质透气性，可通过增加石砾等来改善土壤微环境。三个试验地下铺无纺布地栽和地栽在产量和块根黄酮含量指标上均无显著性差异，地栽处理块根总黄酮含量表现出与控根容器栽培相当的水平，说明在立地条件合适的情况下，可选择采用地栽。

基质是中药材栽培最重要的因素之一。本研究中不同基质处理的三叶青块根产量及总黄酮含量均较高的是 40% 专用基质+60% 黄心土，油茶林下腐殖土和菜地土+10% 草木灰在块根总黄酮含量指标上三个试验地存在差异，



可能与油茶林下腐殖质土养分含量空间差异有关。菜地土+10%草木灰处理块根总黄酮含量表现为较高水平,与K元素有利于三叶青块根黄酮的积累相符。严志伟等<sup>[28]</sup>在比较专用基质、70%菌棒废料+30%黄心土、菜地土+10%草木灰、油茶林下腐殖土这四种土壤基质对油茶林下种植三叶青的影响研究中发现三叶青块根产量以及成活率最好的是专用基质和油茶林下腐殖土,本研究结论与之相符,采用40%专用基质+60%黄心土的S5处理在三个试验地均表现较佳。在实际生产中可根据土壤条件合理选择是否添加基质,以保证三叶青块根的品质和产量。

## 4 结论

综上所述,栽培方式和基质均是影响三叶青单株块根鲜质量的主要因素,不同种植区域的第一影响因子存在差异。试验地Ⅰ和试验地Ⅱ土壤基质对单株块根鲜质量影响最大,而试验地Ⅲ栽培方式对单株块根鲜质量影响最大;3个试验地均是种源对三叶青总黄酮含量影响最大。不同处理系列其单株块根鲜质量,总黄酮含量均存在显著差异,金华种源-控根容器-40%专用基质+60%黄心土处理在三个试验地均较佳,不同地区最佳模式存在部分差异。

## 参考文献:

- [1] 李朝奎. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 122.
- [2] 陈丽芸, 郭素华. 三叶青的化学成分及药理作用研究进展[J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(12): 1368-1370.
- [3] 徐硕, 金鹏飞, 徐文峰, 等. 民间中药三叶青的研究进展[J]. 中南药学, 2016, 14(12): 1336-1341.
- [4] 范适, 胡春梅, 李有清, 等. 三叶青的研究进展[J]. 湖南生态科学学报, 2018, 23(2): 46-51.
- [5] XU CJ, DING GQ, FU JY, et al. Immunoregulatory effects of Ethyl-acetate fraction of extracts from *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg on immune functions of ICR mice[J]. Biomed Environ Sci, 2008, 21(4): 325-331.
- [6] 徐彩菊, 吴平国, 姚亚萍, 等. 三叶青提取物对白血病 HL60 细胞增殖抑制作用研究[J]. 浙江预防医学, 2011, 23(4): 20-22.
- [7] JI T, JI W W, WANG J, et al. A comprehensive review on traditional uses, chemical compositions, pharmacology properties and toxicology of *Tetrastigma hemsleyanum*[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 264: 113247.
- [8] 彭昕, 王志安. 中国三叶青资源研究与利用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2018: 4-6, 52.
- [9] 朱波, 华金渭, 刘昆, 等. 珍稀药材三叶青种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 江西农业大学学报, 2015, 37(5): 914-919, 946.
- [10] 彭昕, 吉庆勇, 李玉兰, 等. 濒危药用植物三叶青 ISSR 分子标记的建立[J]. 中成药, 2015, 37(7): 1507-1514.
- [11] 徐旻, 尹海日, 张宁, 等. 三叶青种质资源评价与创制研究进展[J]. 药物生物技术, 2016, 23(5): 457-461.
- [12] 洪霞, 赖小芳, 邱莉萍, 等. 三叶青高效繁育及栽培技术试验[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(7): 1198-1202.
- [13] 郑漫佳, 韩素芳, 程诗明, 等. 三叶青组培快繁与试管苗光合特性分析[J]. 福建林业科技, 2021, 48(2): 53-59.
- [14] 钱丽华. 药用植物“三叶青”的组培快繁技术研究[J]. 杭州农业科技, 2007(6): 22-23.
- [15] 阙建勇, 阙利芳, 涂川林, 等. 浅谈不同栽培基质对三叶青的生长影响[J]. 华东森林经理, 2019, 33(1): 31-33.
- [16] 毛日华, 陈操, 季利民, 等. 毛竹林下影响三叶青产量和总黄酮含量的因素研究[J]. 南方林业科学, 2018, 46(3): 31-34.
- [17] 凌发四. 林下控根容器种植三叶青技术及四年生块根生长量调查研究[J]. 绿色科技, 2020(15): 97-98.
- [18] 华金渭, 朱波, 吉庆勇, 等. 不同种源三叶青生物学特性与扦插育苗试验[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(8): 1185-1188.
- [19] 许文, 傅志勤, 林菁, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定三叶青中 10 种黄酮类成分[J]. 药学学报, 2014, 49(12): 1711-1717.
- [20] 严志伟, 徐志恒, 钟子龙, 等. 不同种源和不同基质对三叶青产量的影响[J]. 南方林业科学, 2019, 47(04): 27-30.
- [21] 李者, 周昌和, 杜向标, 等. 三叶青研究和生产现状及发展对策[J]. 浙江林业科技, 2020, 40(6): 87-92.
- [22] 何伯伟, 姜娟萍, 徐丹彬. 道地药材“浙八味”与新“浙八味”[J]. 新农村, 2020(5): 21-22.
- [23] 樊丽. 中药材三叶青栽培技术综述[J]. 智慧农业导刊, 2021(16): 18-20.
- [24] 张晓锦. 福建省域内三叶青优良种源地选择研究[J]. 亚热带植物科学, 2020, 49(5): 378-382.
- [25] 严志伟, 徐志恒, 钟子龙, 等. 不同种源和不同基质对三叶青产量的影响[J]. 南方林业科学, 2019, 47(4): 27-30.
- [26] 姜智慧, 叶杨成, 石兴华, 等. 毛竹林地三叶青袋式栽培技术[J]. 安徽农学通报, 2020, 26(2): 68-69.
- [27] 程诗明, 吴在卫, 宋维治. 一种三叶青育苗专用栽培基质: CN104782416A [P]. 2015-07-22.
- [28] 叶赛洋, 舒春清. 人工栽培三叶青在弋阳喜获成功[N]. 上饶日报: 2006-09-08.
- [29] 程诗明, 韩素芳, 吕新旺, 等. 三叶青栽培技术规范: DB33/T2407-2021[S]. 浙江省市场监督管理局, 2021-12-24.
- [30] 郑军献, 胡轶娟, 梁卫青, 等. 紫外可见分光光度法测定三叶青中总黄酮的含量[J]. 中国中医药科技, 2009, 16(5): 386-387.
- [31] 刘静菲, 姚刚. 基于方差分析的非英语专业学习者英语影响因素的研究及应用[J]. 英语广场: 学术研究, 2022(1): 112-115.
- [32] 吉庆勇, 彭昕, 华金渭, 等. 海拔高度对三叶青产量和黄酮含量的影响[J]. 中国现代中药, 2017, 19(7): 1004-1006.
- [33] 阮明颖. 不同产地三叶青总黄酮及多糖含量的测定[J]. 当代化工研究, 2021(22): 19-23.