

林下仿野生栽培和设施栽培金线莲生物量及药用成分含量变化研究

应震¹, 杨燕萍¹, 林恩义², 柳新红³, 何祯³, 王宗星³, 邵珍利², 周庄¹

(1. 浙江省亚热带作物研究所, 浙江 温州 325005; 2. 浙江原野建设有限公司, 浙江 温州 325100; 3. 浙江省林业技术推广总站, 浙江 杭州 310020)

摘要:以金线莲 *Anoectochilus roxburghii* 组培苗为对照, 研究仿野生栽培和温室大棚设施栽培 3 年内金线莲中可溶性多糖和黄酮药用成分含量的变化以及鲜质量与干质量的变化。结果表明: 栽培 1 年后, 林下仿野生栽培金线莲可溶性多糖和黄酮含量均高于大棚设施栽培金线莲的含量, 且随着栽培年份的增加两种成分的含量均呈下降趋势。栽培 3 年, 设施栽培金线莲植株的鲜质量积累高于林下仿野生栽培金线莲植株; 林下仿野生栽培和设施栽培金线莲的干质量含量(干质量/鲜质量)均随时间增加呈现逐渐上升趋势, 但林下仿野生栽培金线莲的干质量含量高于设施栽培。综合以上研究结果表明, 以金线莲药用成分及天然产物提取为主要目标, 推荐林下仿野生栽培 1 年生金线莲; 以鲜生物量为目标, 推荐设施栽培金线莲; 以干生物量为目标, 则推荐林下仿野生栽培方式。

关键词: 金线莲; 仿野生栽培; 设施栽培; 药用成分; 鲜质量; 干质量

中图分类号: S567.2; S723.8 **文章编号:** A **文章编号:** 1001-3776(2023)03-0095-05

Variation of Biomass and Medicinal Components in *Anoectochilus roxburghii* with Different Cultivation Methods

YING Zhen¹, YANG Yan-ping¹, LIN En-yi², LIU Xin-hong³, HE Zhen³, WANG Zong-xing³, SHAO Zhen-li², ZHOU Zhuang¹

(1. Zhejiang Institute of Subtropical Crops, Wenzhou 325005, China; 2. Zhejiang Yuanye Group, Wenzhou 325000, China; 3. Zhejiang Forestry Technology Extension Administration, Hangzhou 310020, China)

Abstract: Tissue cultured *Anoectochilus roxburghii* seedlings were transplanted in nursery of Wenzhou, and under *Phyllostachy edulis* and under mixed forest of *Ph. edulis* and *Cunninghamia lanceolata* in Pingyan, Zhejiang province. In November of the current and the 2nd and 3rd year, determinations were implemented on content of polysaccharide and flavonoids, fresh and dry biomass of seedlings. The results showed that the contents of soluble polysaccharide and flavonoids in understory cultivated *A. roxburghii* were higher than that in the nursery within the first year, and the contents showed a decreasing trend with the increase of years. Fresh weight increased in the nursery was higher than that understory. Dry weight of understorey cultivated seedlings was higher than that in the nursery.

Key words: *Anoectochilus roxburghii*; imitation wild cultivation; installation cultivation; medicinal component; fresh weight; dry weight

金线莲 *Anoectochilus roxburghii* 为兰科 Orchidaceae 开唇兰属 *Anoectochilus* 植物, 叶脉呈金红色, 带有绢丝光泽, 因此得名, 为国家二级保护植物^[1]。在我国浙江、福建和台湾等省, 金线莲被视为珍稀名贵药材^[2]。现有

收稿日期: 2023-01-23; 修回日期: 2023-04-03

基金项目: 浙江省农业新品种选育重大科技专项(2021C02074-4-3); 2022 年度温州市科协服务科技创新项目(jczc56); 中央财政林业科技推广示范项目〔(2021)TS05〕; 2020 年度中央财政林业专项转移支付任务计划; 温州市重大科技攻关项目(ZN2022008)

作者简介: 应震, 助理研究员, 从事林下中药材育种及栽培工作; E-mail: yingzhen0908@126.com。通信作者: 周庄, 高级工程师, 从事植物资源开发利用研究; E-mail: zhuangchow@126.com。

研究表明,金线莲的药用成分主要是多糖和黄酮^[3],具有较好的抗糖尿病^[4-7]、抗肿瘤^[8]、抗肥胖^[9]和抗神经衰老^[10]等功效。在近年全球爆发的新型冠状病毒感染疫情中,福建省中医药管理局发布的《关于做好新型冠状病毒感染的肺炎中医药防治药物储备》的通知中将金线莲推荐为新型冠状病毒中医药防治的储备药物。2019年,国家卫健委对金线莲建议按照《食品安全法》第29条管理,意味着金线莲可作为保健食品。

随着金线莲的药食同源的价值逐渐被开发,市场需求急剧提升,栽培面积不断扩大。但由于国家对基本农田的管控,农业用地栽培金线莲在政策上已不被支持。随着“绿水青山就是金山银山”理念的深入推进,林下经济在浙江省蓬勃发展,林下仿野生栽培金线莲也逐渐兴起,成为浙江省林下经济重要的组成部分。该栽培模式不需要建设大量的设施,但需要投入人工进行清林除草和林下抚育等,部分区域需要铺设简易道路和其他的基础设施,前期投入仍然较大。目前对于金线莲相关的学术报道主要是以多糖组分及药用功效为主,涉及栽培的报道不多,缺少具有明确金线莲多糖及药用成分变化规律的论文,这既不利于金线莲林下仿野生栽培模式的标准化发展,也限制了林下仿野生栽培的普及。本研究通过比较3年内设施栽培和仿野生栽培模式下金线莲的主要药用成分和生物量的变化,为今后科学系统开展金线莲林下栽培提供了重要的参考。

1 材料与方法

1.1 试验地点与材料

试验地点为浙江省温州市瓯海区景山浙江省亚热带作物研究所苗圃内(120°64'19" E, 28°00'47" N; 海拔56 m, 年均降水量1 600 mm, 平均湿度72%, 属于亚热带海洋季风气候), 平阳县怀溪镇金溪村(120°17'13" E, 27°65'93" N; 海拔327~350 m; 林分为毛竹 *Phyllostachys edulis* 林, 郁闭度>0.95, 年均降水量2 200 mm, 平均湿度78%, 属于亚热带海洋季风气候)和凤卧镇平马村(120°26'34" E, 27°70'52" N; 海拔276~281 m; 林分为毛竹-杉木 *Cunninghamia lanceolata* 混交林, 郁闭度>0.95, 年均降水量2 100 mm, 平均湿度76%, 属于亚热带海洋季风气候)。取目前推广较多的金线莲品种‘圆叶’ *A. roxburghii* ‘YuanYe’作为试验材料。

1.2 试验设计

试验用组培苗苗龄200 d, 将组培苗取出清洗消毒后, 2019年3月上旬份于景山浙江省亚热带作物研究所苗圃内采用温室大棚设施栽培(采用德国大汉泥炭土, 海关批号20221032421), 按照5 cm × 5 cm行间距, 种植在50 cm × 50 cm的托盘里, 种植环境温度介于10~30℃, 湿度介于60%~90%, 光照低于200 lx, 每周浇水一次, 每个月施诺普丰叶面肥一次。2019年3月中旬于金溪村和平马村直接栽培于林下土壤, 统一栽培行间距5 cm × 5 cm, 除定期(大约2周)清理落叶和浇水, 不施肥; 以组培苗取出后栽培前的种苗作比较, 分别于林下栽培第1年末、第2年末和第3年末3个阶段进行采样, 每次采集3个生物学重复进行试验。

1.3 检测方法

金线莲中的可溶性多糖含量和黄酮含量检测均参考应震等^[11]的测定方法; 在栽培前, 对种苗的鲜质量进行称量并进行数据记录, 栽培时做好标签, 分别于栽培后第1年11月1—15日、第2年11月1—15日和第3年11月1—15日对林下仿野生栽培和设施栽培的金线莲进行跟踪, 随机选取金线莲样株并进行称量; 干质量检测参考《食品安全国家标准 食品中水分的测定》(GB 5009.3—2016)。

1.4 数据处理

采用Excel 2016软件进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 设施栽培和林下仿野生栽培金线莲可溶性多糖含量比较分析

通过对金线莲组培苗和林下仿野生金线莲中的可溶性多糖含量进行检测(图1), 发现组培苗中的可溶性

多糖含量平均为 $4.30\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 而在林下仿野生栽培模式下, 1 年后金线莲中的可溶性多糖平均含量上升至 $5.15\sim 5.20\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 之后随着栽培时间的延长, 可溶性多糖平均含量呈现逐渐下降趋势。设施栽培下, 1 年后金线莲中的可溶性多糖平均含量上升至 $4.76\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 后, 随着时间的延长也呈现逐年下降趋势。通过方差分析可以看出, 上述分组之间可溶性多糖含量变化差异并不显著 ($P=0.615>0.05$) (表 1)。可溶性多糖是金线莲重要的药用成分, 当组培苗移栽至林下仿野生环境后, 金线莲为了抵御逆境等环境因素, 可溶性多糖会逐渐增多, 但随着金线莲年龄的增大, 植株的纤维素含量增多, 可溶性多糖占比逐渐下降。总体来看, 设施栽培和仿野生栽培第 1 年, 金线莲中的可溶性多糖含量最高, 且仿野生栽培金线莲中的可溶性多糖含量高于设施栽培的含量。

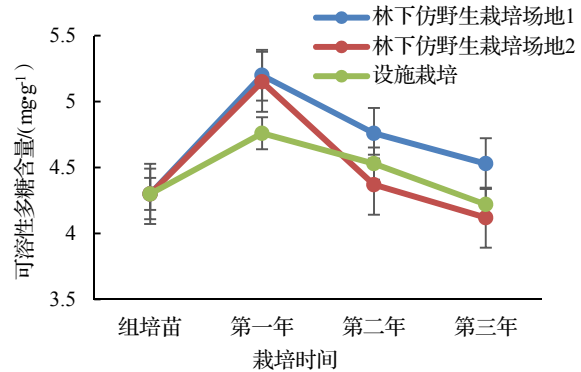


图 1 不同栽培方式金线莲可溶性多糖含量的变化

Fig. 1 Change of polysaccharide content in *A. roxburghii* treated with different cultivation patterns

表 1 不同栽培方式金线莲可溶性多糖含量变化方差分析 Tab. 1 ANOVA on polysaccharide content in different treated seedlings						
差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	0.141 65	2	0.070 825	0.512 709	0.615 361	4.256 495
组内	1.243 25	9	0.138 139			
总计	1.384 90	11				

2.2 设施栽培和林下仿野生栽培金线莲黄酮含量比较

金线莲中的黄酮含量变化趋势见图 2。由图 2 可知, 组培苗中, 金线莲中的黄酮平均含量为 $2.71\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 林下仿野生栽培 1 年后, 金线莲中的黄酮平均含量迅速上升至 $3.56\sim 3.61\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 之后随着金线莲年龄的增加, 黄酮含量呈现逐渐下降趋势。设施栽培下栽培 1 年后, 金线莲中的黄酮含量和组培苗中的黄酮含量接近, 之后随着栽培时间的延长, 金线莲中的黄酮含量快速下降。通过方差分析, 上述分组之间金线莲中的黄酮含量变化差异显著 ($P=0.035<0.05$) (表 2)。

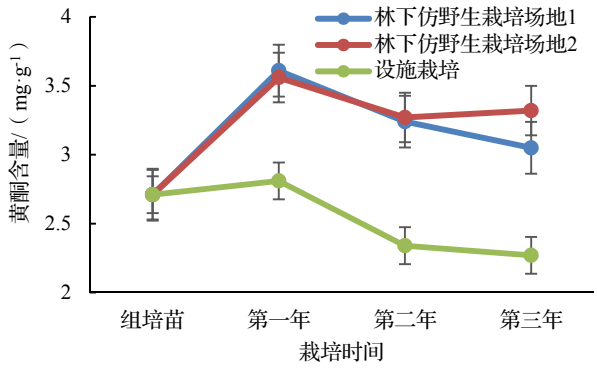


图 2 不同栽培方式金线莲黄酮含量的变化

Fig. 2 Change of flavone content in *A. roxburghii* treated with different cultivation patterns

造成上述结果可能是由于当金线莲组培苗移入林下仿野生栽培后, 为了适应环境, 激活了体内较多的次生代谢途径, 特别是类黄酮代谢途径, 这就使黄酮含量迅速上升。而设施栽培种苗不需要快速适应环境, 同时植株生长速度也较快, 使得黄酮的相对含量下降。总体来看, 仿野生栽培第 1 年, 金线莲中的黄酮含量最高。

表 2 不同栽培方式金线莲黄酮含量变化方差分析 Tab. 2 ANOVA on flavone content in different treated seedlings						
差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	1.138 817	2	0.569 408	4.995 540	0.034 723	4.256 495
组内	1.025 850	9	0.113 983			
总计	2.164 667	11				

2.3 设施栽培和林下仿野生金线莲的鲜质量积累比较

金线莲从组培苗至栽培 1~3 年的鲜质量积累情况见图 3。从图 3 可知,林下仿野生栽培金线莲植株鲜质量的积累速度明显低于设施栽培金线莲植株,通过与刚栽培完成的金线莲相比,第 1 年林下仿野生栽培金线莲植株鲜质量大约可以积累 113.19%~115.61%(第 1 年质量÷组培苗质量×100%),而设施栽培金线莲则平均可以积累 137.43%;到第 3 年,林下仿野生栽培金线莲植株鲜质量可积累 134.55%~139.45%(第 3 年÷组培苗×100%),而设施栽培金线莲植株鲜质量则可以积累 191.05%。但方差分析结果表明,不同栽培方式金线莲植株的鲜质量积累差异并不显著($P=0.468>0.05$)(表 3)。显然,金线莲林下仿野生栽培过程中,受气候影响大,非生物和生物因素使金线莲的生长速度明显低于设施栽培。

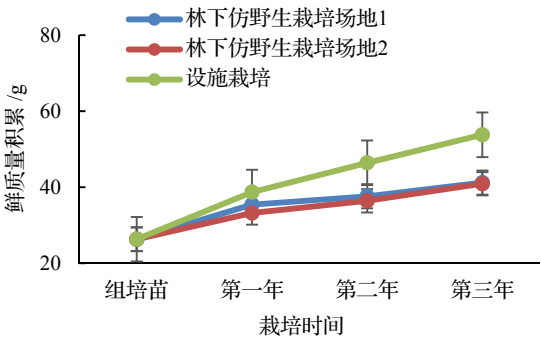


图 3 不同栽培方式金线莲鲜质量的变化
Fig. 3 Change of fresh weight of *A. roxburghii* treated with different cultivation patterns

表 3 不同栽培方式金线莲鲜质量积累变化方差分析
Tab. 3 ANOVA on fresh weight of different treated seedlings

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	119.195 0	2	59.597 500	0.827 555	0.467 822	4.256 495
组内	648.147 5	9	72.016 390			
总计	767.342 5	11				

2.4 设施栽培和林下仿野生栽培金线莲的干质量增加比较

通过对不同栽培方式下金线莲样品干质量增加的百分比(干质量/鲜质量)进行比较(见图 4),发现无论仿野生栽培或设施栽培,金线莲从组培苗移栽后干质量/鲜质量均呈现逐渐上升趋势,并且不同处理间的差异均不显著($P=0.907>0.05$)(表 4)。

但是,仿野生栽培下的金线莲总体上干物质积累量要大于设施栽培金线莲,尤其第 2 年后金线莲的平均干质量增加的百分比(干质量/鲜质量)可以达到 24.1%~25.7%。这可能与金线莲设施栽培过程中稳定的浇灌和湿度控制有关,使设施栽培金线莲含水量高于仿野生栽培环境下的金线莲,而林下仿野生栽培金线莲由于野外环境较差,含水率降低。

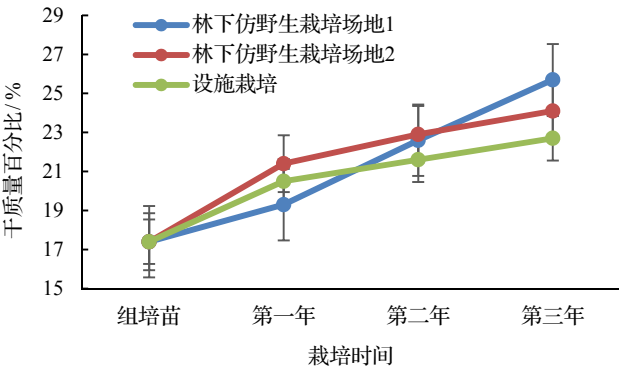


图 4 不同栽培方式金线莲干质量百分比的变化
Fig. 4 Change of dry weight of *A. roxburghii* treated with different cultivation patterns

表 4 不同栽培方式金线莲干质量含量变化方差分析
Tab. 4 ANOVA on dry weight of different treated seedlings

差异源	SS	df	MS	F	P-value	F crit
组间	1.786 667	2	0.893 333	0.098 735	0.906 95	4.256 495
组内	81.43	9	9.047 778			
总计	83.216 67	11				

3 结论与讨论

3.1 结论

上述研究结果表明, 总体上, 金线莲林下仿野生栽培种苗在药用成分和干物质积累上比设施栽培的金线莲种苗有一定的优势。对于现有金线莲林下仿野生栽培体系, 如果以金线莲药用成分及天然产物提取为主要的目标, 推荐林下仿野生栽培 1 年的金线莲, 因为该阶段的可溶性多糖和黄酮成分积累量高, 适合天然产物提取或者直接制成中药材。种苗栽培超过 2 年, 其药用成分含量明显降低, 同时也会增加栽培成本。如果以鲜生物量为目标, 无论是在种苗生长速度还是方便采摘上, 设施栽培较林下仿野生栽培具有较大的优势。如果以干生物量为目标, 林下仿野生栽培则具有一定的优势, 因为林下仿野生种苗的干物质积累明显高于设施栽培种苗的, 并且推荐栽培 2~3 年后采摘烘干。

3.2 讨论

本文仅以一种金线莲品种‘圆叶’为研究对象, 具有一定的局限性, 同时对于金线莲关键的药用成分金线莲苷等并未开展研究, 今后建议采用转录代谢联合分析等技术手段, 开展金线莲栽培模式与药用成分开发利用的相关研究, 进一步丰富相关数据。

参考文献

- [1] 《浙江植物志(新编)》编辑委员会. 浙江植物志(新编): 第十卷: [M]. 杭州: 浙江科技出版社, 2021: 212–220.
- [2] XIAO S Y, GUO S X AND XIE F. Secondary metabolites of *Gliocladium* sp., a growth accelerating fungus for *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl[J]. Int J Agr Technol, 2018, 14 (2): 171–182.
- [3] YE S, SHAO Q, ZHANG A. *Anoectochilus roxburghii*: A review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 209: 184–202.
- [4] GAO H, DING L, LIU R, et al. Characterization of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide and its therapeutic effect on type 2 diabetic mice[J]. Int J Biol Macromolec, 179: 259–269.
- [5] ZHANG Y, CAI J, RUAN H, et al. Antihyperglycemic activity of kinsenoside, a high yielding constituent from *Anoectochilus roxburghii* in streptozotocin diabetic rats[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 114 (2): 141–145.
- [6] LI L, LI Y M, LIU Z L, et al. The renal protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose on diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 178: 58–65
- [7] ZHANG J G, LIU Q, LIU Z L, et al. Antihyperglycemic activity of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. J Ethnopharmacol 2015, 164: 180–185.
- [8] DOAN C C, THANH L L, NGUYEN QUYNH C H, et al. Evaluation of in vitro cytotoxicity and in vivo potential toxicity of the extract from in vitro cultivated *Anoectochilus roxburghii* Lindl [J]. J Toxicol Environ Health A 2021, 84 (24): 987–1003.
- [9] TIAN D M, ZHONG X Y, FU L Y, et al., Therapeutic effect and mechanism of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. in diet-induced obesity[J]. Phytomedicine, 2022, 99: 154031.
- [10] ZENG Z, CHEN C, SITU Y, et al. *Anoectochilus roxburghii* flavonoids extract ameliorated the memory decline and reduced neuron apoptosis via modulating SIRT1 signaling pathway in senescent mice[J]. J Ethnopharmacol, 2022: 115361.
- [11] 应震, 周庄, 付双彬, 等. 浙江省野生开唇兰主要药用成分分析[J]. 浙江农业科学, 2022, 63 (3): 495–496.