

不同栽培模式对五年生鸡血藤 生理生化指标的影响

席飞飞¹,何钢¹,刘贤桂²,刘杰¹,倪尚格³,张世良³

(1. 中南林业科技大学 生命科学与技术学院,湖南 长沙 410018;2. 中南林业科技大学 林学院,湖南 长沙 410018;
3. 广东常瑞林业有限公司,广东 从化 510900)

摘要:以鸡血藤为试材,研究了不同栽培(火龙果、荔枝)模式下,鸡血藤的存活率、株高、茎粗、一级分枝数等生长指标、生理指标和次生代谢产物的变化。结果表明:火龙果树下栽培的鸡血藤存活率、茎粗、一级分枝数明显高于荔枝树下栽培的鸡血藤;与荔枝树下栽培的鸡血藤相比,火龙果树下栽培的鸡血藤干物质积累量、可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量、乙醇浸出物、总黄酮含量分别提高了33.13%、15.22%、25.65%、44.44%、21.07%,总灰分含量降低了14.03%。火龙果树下栽培的鸡血藤生长情况表现较好,且生理生化性状指标均高于荔枝树下栽培,更有利于鸡血藤的优质栽培。

关键词:鸡血藤;林下栽培;生理指标;总黄酮;总灰分;乙醇浸出物

中图分类号:S 567.1⁺⁹ **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)15-0124-05

鸡血藤(*Spatholobus suberectus* Dunn.)属豆科(Leguminosae)密花豆属植物,干燥藤茎入药。味苦、微甘、性温,为传统的活血补血中药^[1]。鸡血藤为亚热带大型藤本,喜光、不耐寒、稍耐阴,分布在中国大陆的广东、云南、四川、广西等地。其适应性比较强,喜欢深厚、肥沃、湿润、疏松、排水良好的林间熟地,但在贫瘠干旱的地方也能够生长。其幼年生长较慢,3~4年后生长迅速。近年来由于乱采滥挖,野生资源已面临枯竭。因此运用现代农业技术,实施野生变家种的发展策略,是保持药材优良品质和实现中药现代化的迫切需求。

现代药理研究表明鸡血藤具有明显的抗贫

血、镇痛、催眠、降血脂、抗脂质过氧化等作用。近年来鸡血藤抗肿瘤、抗病毒作用已成为国内外学者的研究热点。除此之外,鸡血藤具有很强的抗氧化活性。低毒是鸡血藤非常显著的特点,这对于抗肿瘤药物普遍具有很高的毒性来说,尤其是开发利用鸡血藤作为肿瘤患者的日常食疗产品具有一定的现实意义^[2-9]。除药用外,其嫩叶也可作凉茶饮用。

鸡血藤林下栽培模式是以自然生长的树木为载体仿造鸡血藤自然生长环境,将植株移栽于树种下,利用树木的枝叶为其遮阴的一种种植方法。其方法简单,投资少,且能多年受益,是农民勤劳致富奔小康的有效途径^[10]。从生态学角度看,林下栽培鸡血藤既符合植物群落生态环境生长规律,又能形成最优的生态环境,发挥林地资源生产力,保护森林生态资源。为了提高生产效率,降低生产成本,探寻更加适宜的鸡血藤林下栽培模式,以火龙果和荔枝树为鸡血藤林下栽培树种,观测其在自然生态环境下的生长和生理指标变化,以期为今后鸡血藤种植和林药经济发展提供参考依据。

第一作者简介:席飞飞(1990-),男,硕士研究生,研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail:645197330@qq.com.

责任编辑:何钢(1965-),男,硕士,教授,现主要从事生物技术教学与科研等工作。E-mail:hegang262@163.com.

基金项目:国家林业公益性行业科技专项资助项目(201304807)。

收稿日期:2017-03-05

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在广东省从化市鳌头镇(东经 $113^{\circ}56'$,北纬 $23^{\circ}34'$),年均气温为 21.2°C ,年降水量 $2\,176.3\,\text{mm}$,年日照时数 $1\,175.0\,\text{h}$,境内地势平坦,土层深厚、肥沃,土质较疏松,环境优美,空气清新。鳌头镇横岭村种植基地是砂岩和变质岩为主的红壤丘陵地,土壤偏酸性,pH $4\sim 6$ 。经中南林业科技大学南方林业生态应用技术国家工程实验室检测,土壤环境质量(表1)符合中华人民共和国土壤环境质量标准(GB15618-1995)。

表1 鸡血藤研究基地土壤重金属分析

Table 1 Test results of *Spatholobus suberectus* Dunn.
research base of soil heavy metals mg·kg⁻¹

重金属 Heavy metals	质量分数 Mass fraction	重金属 Heavy metals	质量分数 Mass fraction
Zn	75.89	Cd	0.05
Cu	3.49	Cr	0.03
Pb	16.84		

1.2 试验材料

供试鸡血藤来源于广西鸡血藤种植基地,经中南林业科技大学生命科学与技术学院何钢教授鉴定为5年生豆科植物密花豆。

1.3 试验方法

试验于2011年3月在火龙果和荔枝树下进行栽培,火龙果树下栽培采用一畔一行种植,每畔柱间距离 $2.5\,\text{m}$,每 $667\,\text{m}^2$ 竖水泥柱约90根;荔枝树栽培采用的株距约 $4\,\text{m}$ 密度种植。火龙果和荔枝树下的郁闭度分别为 0.2 、 0.8 。选择生长健壮、无病虫害、长势均衡的鸡血藤苗木进行栽培,采用穴垦方式株距为 $25\,\text{cm}$ 的栽培密度种植,小区面积 $30\,\text{m}^2$,3次重复。2个试验地点鸡血藤田间管理措施保持一致,不灌溉,无施肥等抚育管护,亦不采取病虫害防控措施,即为自然生长状态。测定鸡血藤的存活率、株高、茎粗、一级分枝数等形态指标,并测定其生理生化性状指标。

1.4 项目测定

1.4.1 鸡血藤形态指标测定

植株存活率、株高的评价:在测定前统计存活株数,并测量其株高,存活率为存活株数和种植株数之百分比。茎粗:分别随机取3株调查,用50分度游标卡尺测量茎粗(离地 $5\,\text{cm}$ 直径),3次重复,取平均值。随机分别取 $25\sim 30$ 株,统计其一级分枝数。

1.4.2 鸡血藤生理指标测定

干物质积累量:分别取10株鸡血藤植株,用蒸馏水洗净晾干,将植株叶、茎、根、根芽等在 105°C 下杀青,于 70°C 烘至恒重,称取质量。可溶性蛋白质含量:采用考马斯亮兰G-250染色法^[11-12]测定,以牛血清蛋白做标准曲线。称取新鲜鸡血藤幼嫩叶片 $0.5\,\text{g}$,剪碎,置于预冷的研钵中,加入 $5\,\text{mL}$ 预冷的 $0.1\,\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 7.0)磷酸缓冲液,在冰浴下研磨成匀浆,室温下放置1 h充分提取,倒入离心管中, $4\,000\,\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 冰浴离心20 min,取样品上清液 $0.1\,\text{mL}$,加入 $0.9\,\text{mL}$ 蒸馏水和 $5\,\text{mL}$ $100\,\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 考马斯亮兰G-250试剂,充分混合,放置2 min后于波长 $595\,\text{nm}$ 下比色,测吸光度值,并通过标准曲线查得蛋白质含量。可溶性糖含量:采用蒽酮比色法^[11,13]测定,以蔗糖做标准曲线。称取3份鸡血藤幼嫩干叶片 $0.3\,\text{g}$ 分别放入3支试管中,加入 $10\,\text{mL}$ 蒸馏水,塑料薄膜封口,于沸水中提取30 min(提取2次),静置20 min,过滤,并用蒸馏水定容至 $25\,\text{mL}$ 容量瓶中。吸取样品提取液 $0.5\,\text{mL}$ (3次重复),加蒸馏水 $1.5\,\text{mL}$,蒽酮乙酸乙酯试剂 $0.5\,\text{mL}$,浓硫酸 $5\,\text{mL}$,摇匀沸水浴中5 min,室温冷却,于波长 $630\,\text{nm}$ 比色,测得吸光度值,并通过标准曲线查得可溶性糖含量。

1.4.3 鸡血藤生化指标测定

总黄酮含量:吸取鸡血藤醇溶性提取物于容量瓶中,参照《中国药典》版铝盐在碱性条件下同黄酮生成红色络合物的比色法测定总黄酮,3次重复。乙醇浸出物含量:依照2010年版中国药典一部版附录XA方法测定鸡血藤中醇溶性浸出物含量,3次重复。总灰分含量:将测定用鸡血藤样品粉碎,使其能够通过2号筛,混合均匀后,取供试品 $2\sim 3\,\text{g}$,置炽灼至恒重的坩埚中,称定质量

(准确至 0.01 g), 缓缓炽热, 注意避免燃烧, 至完全炭化时, 逐渐升高温度至 500~600 °C, 使完全灰化并至恒重, 3 次重复。灼烧残留的无机氧化物质量即为总灰分, 根据残渣质量, 计算供试品中含总灰分的百分数。

1.5 数据分析

试验数据采用 Excel 和 SPSS 21.0 软件进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同栽培模式下鸡血藤生长形态指标

株高、茎粗和一级分枝数是评价植物生长状态的重要指标。从表 2 可以看出, 不同栽培模式

下的鸡血藤大部分表现出良好的生存能力, 生长在火龙果树下的鸡血藤存活率达到了 85% 以上, 相比于荔枝树下的鸡血藤至少提高了 8.5 个百分点; 从鸡血藤的外观上看, 生长在火龙果地下的鸡血藤健壮旺盛, 叶片颜色较深; 而生长在荔枝树下的鸡血藤生长缓慢, 表现出细嫩表象。火龙果树下的鸡血藤茎粗最高达到了 2.13 cm, 而荔枝树下的鸡血藤茎粗约 1.64 cm; 生长在火龙果树下的鸡血藤一级分枝约为 8 个, 较生长在荔枝树下的鸡血藤多了 3 个。同时, 生长在荔枝树下的鸡血藤株高远高于火龙果树下的鸡血藤, 最高为 442.86 cm, 最矮为 439.14 cm, 这可能是由于荔枝树郁闭度比较大, 导致鸡血藤长期光照不足, 因此发生了徒长现象。

表 2

Table 2

不同栽培模式下鸡血藤存活率、株高、茎粗及一级分枝数比较
Comparison of survival rate, plant height, stem perimeter and primary shoot numbers of *Spatholobus suberectus* Dunn. under different cultivating models

树种 Type	存活率 Survival rate/%	株高 Plant height/cm	茎粗 Stem diameter/cm	一级分枝数 Primary shoot numbers/个
火龙果 Pitaya	85.23±0.42	333.33±1.53	2.05±0.08	7.67±0.57
荔枝树 Litchi	76.80±0.30	441.15±1.86	1.64±0.82	4.33±0.58

2.2 不同栽培模式下鸡血藤生理指标

物质生产是作物生物学产量和经济学产量形成的基础^[14]。表 3 表明, 火龙果树下栽培的鸡血藤干物质积累量高达 2 036.61 g·株⁻¹, 相比于荔枝树下的鸡血藤提高了 509.23 g·株⁻¹。鸡血藤叶内可溶性总糖含量的高低反映了鸡血藤叶光合生产能力及源的供应状况; 叶片可溶性蛋白质含量的高低, 不仅反映植株氮素代谢水平, 而且常

被作为衡量叶片衰老程度的重要指标。相比于荔枝树下的鸡血藤, 火龙果栽培下的鸡血藤可溶性蛋白质含量和可溶性糖含量分别提高了 15.22%、25.65%。可见, 不同栽培模式下的鸡血藤干物质积累量、叶片可溶性蛋白质和可溶性糖含量均存在差异。这可能是因为荔枝树郁闭度过高, 导致鸡血藤光合特性出现了偏差, 这一结果也正好符合鸡血藤喜阳的生物学特性。

表 3

Table 3

不同栽培模式下鸡血藤干物质积累量、可溶性蛋白质及可溶性糖含量比较
Comparison of dry matter accumulation, soluble protein content, soluble sugar content of *Spatholobus suberectus* Dunn. under different cultivating models

树种 Type	干物质积累量 Dry matter accumulation/(g·株 ⁻¹)	可溶性蛋白质含量 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)	可溶性糖含量 Soluble sugar content/(mg·g ⁻¹)
火龙果 Pitaya	2 033.75±3.87	100.53±1.22	37.13±0.21
荔枝树 Litchi	1 527.57±5.74	87.25±0.24	29.55±0.21

2.3 不同栽培模式下鸡血藤总黄酮含量、乙醇浸出物、总灰分含量

从表 4 可以看出, 不同栽培模式对鸡血藤的品质具有一定影响, 鸡血藤性状评价也有差异。其中, 火龙果树下栽培的鸡血藤总黄酮、乙醇浸出

物含量相比于荔枝树下栽培的鸡血藤分别提高了 21.07%、44.44%, 总灰分含量也明显低于荔枝树下栽培的鸡血藤。火龙果树下栽培的鸡血藤品质更好。

表 5 方差分析表明, 不同栽培模式下鸡血藤

各性状指标 P 值均小于其临界值 $P_{0.05}$, 说明不同栽培模式的性状指标均存在显著差异, 造成差异性的原因可能来源于 2 个方面。1) 荔枝树自身的郁闭度比较大, 鸡血藤长期光照不足, 其光合特性受到影响, 造成了品质的差异性; 2) 根的交互作用影响, 荔枝树的根系由很多粗壮发达的侧根和纤

细茂密的细根所组成, 其根系分泌物的成分抑制了鸡血藤的生长及根系活动, 造成异种克生现象。除此之外, 其根系分泌物可能直接影响了鸡血藤养分的生物有效性, 同时也可能决定着鸡血藤中某些元素的迁移和转化。

表 4

不同栽培模式下鸡血藤总黄酮、乙醇浸出物、总灰分含量比较

Table 4

Comparison of the contents of total flavonoids, ethanol extracttotal, total ash of

Spatholobus suberectus Dunn. under different cultivating models

%

树种 Type	总黄酮含量 Flavonoids content	乙醇浸出物含量 Ethanol extractum content	总灰分含量 Total ash content
火龙果 Pitaya	6.32±0.35	15.6±0.45	2.88±0.16
荔枝树 Litchi	5.22±0.46	10.8±0.36	3.35±0.43

表 5

方差分析结果

Table 5

Analysis of variance

性状指标 Properties	F 值 F value	显著性 Significant level
		0.000
存活率 Survival rate/%	271.86	0.000
株高 Plant height/cm	455.26	0.000
茎粗 Stem perimeter/cm	45.28	0.030
一级分枝数 Primary shoot numbers/个	577.01	0.000
干物质积累量 Dry matter accumulation/(g·株 ⁻¹)	126.70	0.000
可溶性蛋白质含量 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)	91.62	0.001
可溶性糖含量 Soluble sugar content/(mg·g ⁻¹)	94.91	0.001
总黄酮含量 Flavonoids content/%	77.97	0.000

表 6

不同成分间相关分析

Table 6

Corresponding relationship among the indexes($n=20$)

	总黄酮 Flavonoids (X1)	乙醇浸出物 Ethanol extractum (X2)	总灰分 Total ash (X3)	茎粗 Stem diameter (X4)	可溶性糖 Soluble sugar (X5)	可溶性蛋白质 Soluble protein (X6)
X1	1.000					
X2	0.982**	1.000				
X3	-0.940	-0.979	1.000			
X4	0.965	0.419	-0.628	1.000		
X5	0.935	0.985	-0.981	-0.975*	1.000	
X6	-0.889**	-0.761**	-0.997*	-0.999*	-0.962	1.000

注: * 表示 $P<0.05$ 水平显著相关, ** 表示 $P<0.01$ 水平显著相关。

Note: * represents significant level of $P<0.05$, ** represents significant level of $P<0.01$.

3 讨论与结论

试验过程中, 在火龙果和荔枝树下栽培的鸡血藤表现出良好的适应性。其中, 在火龙果树下栽培的鸡血藤存活率、株高、茎粗、一级分枝数等生长形态指标表现出良好的生产潜能, 且干物质积累量、可溶性蛋白质、可溶性糖等生理指标及总黄酮、乙醇浸出物等均显著高于荔枝树下栽培的

鸡血藤, 相关分析表明, 鸡血藤次级代谢物含量与茎粗呈正相关。

鸡血藤作为我国传统珍贵中药之一, 其野生资源的枯竭促使了林下人工栽培模式应运而生。林药产业不仅是发展林下经济的重要内容, 而且体现了新的健康理念, 新的中医药发展理念, 新的绿色产业和生态经济高效产业理念^[15-16]。

该试验鸡血藤均在自然状态下生长, 无灌溉、无施肥、病虫害防治、遮阴等人工干预, 主要目的

是直接和间接观测其在当地自然气候环境下,鸡血藤在不同林地下表现出自然生长特性和理化差异,为今后的引种种植和林药产业发展提供科学的评价依据。但种植鸡血藤毕竟是为了获得更高的产量,追求经济效益最大化,因此人工规模种植必然离不开施肥、灌溉、抚育管护、病虫防治等栽培措施,如何进行评价,有待今后进一步开展相关研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 3 部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [2] 秦建鲜, 黄锁义. 鸡血藤药理作用的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2014(1): 180-183.
- [3] CHEN M, CHEN D F, HETEROCLITIN H. A new lignan from Kadsura Heteroclita [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2006, 8(7): 643-648.
- [4] 南楠, 张甘霖, 王笑民. 鸡血藤抗肿瘤作用研究现状 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(8): 2563-2566.
- [5] SANG H S. 20S proteasome inhibitory activity of flavonoids isolated from *Spatholobus suberectus* [J]. Phytotherapy Research, 2011, 25(4): 615-618.
- [6] 余弯弯, 双鹏程, 张凌. 鸡血藤化学成分及药理作用研究概况 [J]. 江西中医药大学学报, 2014, 26(4): 89-92.
- [7] 张夏辉. 鸡血藤中黄酮类化合物提取及抗氧化性的研究 [D]. 柳州: 广西科技大学, 2013.
- [8] WANG D X, LIU P, CHEN Y H, et al. Stimulating effect of catechin, an active component of *Spatholobus suberectus* Dunn, on bioactivity of hematopoietic growth factor [J]. Chinese Medical Journal, 2008, 121(8): 752-755.
- [9] 荣广天, 何钢, 朱丽芳, 等. 鸡血藤的生理生化研究进展 [J]. 北方园艺, 2015(6): 183-186.
- [10] 章德三, 徐高福, 余明华. 铁皮石斛活树附生原生态栽培技术与应用 [J]. 绿色科技, 2015(2): 62-63.
- [11] 王晶英. 植物生理生化实验技术与原理 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003.
- [12] 曲春香, 沈颂东, 王雪峰, 等. 用考马斯亮蓝测定植物粗提液中可溶性蛋白质含量方法的研究 [J]. 苏州大学学报(自然科学版), 2006, 22(2): 82-85.
- [13] 丁雪梅, 张晓君, 赵云, 等. 葡萄糖比色法测定可溶性糖含量的试验方法改进 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014, 23(12): 230-233.
- [14] 刘大会. 矿质营养对药用菊花生长、次生代谢和品质的影响及其作用机理研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [15] 卫夏青, 秦国伟. 发展林下经济是生态林业和民生林业的生动实践: 以安徽省为例 [J]. 林业经济, 2013(3): 31-34.
- [16] 海渤. 林下产业经济模式研究 [J]. 绿色科技, 2010(8): 19-20.

Effects of Different Cultivating Models on Physiological and Biochemical Index of Five-year-old *Spatholobus suberectus* Dunn.

XI Feifei¹, HE Gang¹, LIU Xiangui², LIU Jie¹, NI Shangge³, ZHANG Shiliang³

(1. Life Science and Technology College, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410018; 2. Forestry College, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410018; 3. Guangdong Changrui Forestry Co. Ltd., Conghua, Guangdong 510900)

Abstract: Taking *Spatholobus suberectus* Dunn. as test material, the plant survival rate, plant height, main stem perimeter, primary shoot numbers, physiological and biochemical characteristics of *Spatholobus suberectus* Dunn. were researched by two kinds of cultivation models (pitaya and litchi). The results indicated that the plant survival rate, plant height, main stem perimeter and primary shoot numbers under pitaya were significantly higher than litchi; compared with cultivation models under litchi, the plant dry matter accumulation, soluble protein content, soluble sugar content, ethanol extractum and total flavonoids under pitaya were respectively improved 33.13%, 15.22%, 25.65%, 44.44%, 21.07%, and the total ash content decreased by 14.03%. *Spatholobus suberectus* Dunn. grew better under pitaya, and the physiological and biochemical properties evaluation of *Spatholobus suberectus* Dunn. under pitaya was significantly higher than litchi, which was more beneficial to quality cultivation of *Spatholobus suberectus* Dunn.

Keywords: *Spatholobus suberectus* Dunn.; cultivation under forest; physiological indicators; total flavonoids; total ash; ethanol extract