

## 积雪草人工种植技术的初步研究

刘曲山, 钟小清, 闵建国, 卢志标, 邹节明\*

桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004

**摘要:** 目的 研究积雪草 *Centella asiatica* 人工种植技术。方法 以积雪草产量及药材中积雪草苷和羟基积雪草苷的总量为评价指标, 考察土壤类型、种植密度、基肥、施肥方式及荫蔽度等不同因素对种植效果的影响。结果 积雪草适合种植于泥炭土-珍珠岩 (1:1) 中, 种植密度为 20 cm×20 cm, 基肥为有机肥/复合肥 (1:1), 基肥用量为 7.5 g/m<sup>2</sup>, 定植 4 个月后施尿素 (18 g/m<sup>2</sup>)、5 个月后施复合肥 (45 g/m<sup>2</sup>), 适宜荫蔽度为 75%。结论 本实验研究可为建立积雪草 GAP 种植基地奠定基础。

**关键词:** 积雪草; 种植; 积雪草苷; 羟基积雪草苷

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)13-2757-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.13.027

## Preliminary study on artificial planting technique of *Centella asiatica*

LIU Qu-shan, ZHONG Xiao-qing, MIN Jian-guo, LU Zhi-biao, ZOU Jie-ming

Guilin Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Guilin 541004, China

**Abstract:** **Objective** To study the artificial planting technique of *Centella asiatica*. **Methods** The yield and the total content of asiaticoside and madecassoside in *C. asiatica* were used as evaluating indicators. And the influences of different factors such as soil type, planting density, base fertilizer, fertilization, and shading degree on planting effect were investigated. **Results** *C. asiatica* was suitable to be planted in peat soil/perlite (1:1), the planting density was 20 cm×20 cm, the base fertilizer was organic fertilizer/compound fertilizer (1:1) and its consumption was 7.5 g/m<sup>2</sup>, urea (18 g/m<sup>2</sup>) was applied after 4 months and compound fertilizer (45 g/m<sup>2</sup>) was applied after 5 months, the appropriate shading degree was 75%. **Conclusion** The research results could be used to establish the GAP planting base of *C. asiatica*.

**Key words:** *Centella asiatica* (L.) Urb.; growth; asiaticoside; madecassoside

积雪草为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb. 的干燥全草, 又称落得打、崩大碗、半边钱, 在我国主要分布于华东、华南、中南及西南各省区海拔 2 000 m 以下的山下、路旁、沟边、田边、草地等肥沃阴湿处<sup>[1]</sup>。相关文献报道, 积雪草在民间可作为凉茶饮用和蔬菜食用<sup>[2]</sup>, 具有治疗腮腺炎、烧伤、慢性肾功能衰竭以及抗肿瘤等作用<sup>[3-6]</sup>, 还可用于美容护肤<sup>[7]</sup>。现代研究表明积雪草主要含三萜及其苷类、多炔类、挥发油、黄酮类、生物碱类等物质, 其中以三萜类的积雪草苷研究最多, 为积雪草发挥相关功效的主要有效成分<sup>[8]</sup>。积雪草野生资源虽分布较广, 但因其特殊的生物学特性, 强大的匍匐茎和繁殖迅速的茎节根系可形成致密的地表覆盖, 人工采挖较费工时, 导致分布量少的地

方几乎无人采收。生长集中且便于采收的农田及庄稼地因除草剂的大量使用又导致野生积雪草的产量日益减少, 药材价格不断上涨, 因此有必要开展积雪草的人工种植技术研究, 以解决药材资源短缺问题。

目前对于积雪草的研究大多集中于化学成分、药理活性及制剂开发等, 人工繁育方面则有关于利用外植体进行快速繁殖的相关报道<sup>[9-11]</sup>, 但种植栽培研究少有报道。广西是积雪草的主产区之一, 有适宜开展人工种植研究的气候环境, 本实验利用前期繁育的积雪草幼苗开展人工种植研究, 并用 HPLC 对采收样品中的羟基积雪草苷和积雪草苷 2 种皂苷进行测定和比较, 可为建立积雪草 GAP 种植基地奠定一定基础。

收稿日期: 2017-02-12

作者简介: 刘曲山, 主要从事中药新药及质量标准研究。E-mail: liuqushan@sina.com

\*通信作者 邹节明 Tel: 0773(5842588) E-mail: zjm@sanjin.com.cn

## 1 材料与仪器

### 1.1 材料

积雪草幼苗由广西植物研究院培育, 苗高 8~14 cm, 真叶 12~20 片, 根长 6~12 cm, 种植基地为广西桂林雁山植物园。药材经桂林三金药业股份有限公司邹节明教授鉴定为积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb. 的干燥全草。羟基积雪草苷 (批号 110893-201403)、积雪草苷 (批号 110892-201505) 均购于中国食品药品检定研究院, 质量分数均大于 98%。

### 1.2 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪 (配 2998 二极管阵列检测器), Empower2 色谱工作站, BUG-40 超声仪 (上海 Branson)。

## 2 方法

### 2.1 土壤类型考察

采用盆栽方式将积雪草幼苗分别定植于泥炭土、药渣、泥炭土-珍珠岩 (1:1) 3 种类型土壤中, 每组 10 盆, 每盆定植 3 株, 6 个月后测其整株产量及皂苷量。

### 2.2 种植密度与基肥考察

选择大小基本一致的积雪草幼苗, 按表 1 开展 3 因素 3 水平的正交试验, 每组定植 0.6 m<sup>2</sup>, 6 个月后统一采收、阴干以及皂苷量的测定与统计。

表 1 种植密度与基肥正交试验

Table 1 Planting density and fertilizer orthogonal test table

| 水平 | 因素          |               |                               |
|----|-------------|---------------|-------------------------------|
|    | 种植密度 (A)    | 基肥配方 (B)      | 基肥用量 (C)/(g·m <sup>-2</sup> ) |
| 1  | 10 cm×20 cm | 有机肥           | 22.5                          |
| 2  | 20 cm×20 cm | 复合肥           | 15.0                          |
| 3  | 30 cm×20 cm | 有机肥-复合肥 (1:1) | 7.5                           |

### 2.3 施肥方式考察

根据前期确定的种植条件继续开展以下 4 种施肥方式考察, 即定植 4 个月后分别施以复合肥 45 g/m<sup>2</sup> (D)、尿素 18 g/m<sup>2</sup> (E)、K 肥 6 g/m<sup>2</sup> (F) 及不施肥 (G), 定植 5 个月后上述 4 组样品均施 45 g/m<sup>2</sup> 的复合肥, 每组定植 0.6 m<sup>2</sup>, 于 6 个月后统一采收、阴干以及皂苷量的测定与统计。

### 2.4 荫蔽度考察

利用 1.8 m 水泥柱顶部盖上不同荫蔽度的遮阴网, 分别在全光照、50%、75%、90% 4 种荫蔽度条件下定植, 其余种植条件采用前期考察的最佳参数,

每组定植 0.6 m<sup>2</sup>, 于 6 个月后统一采收、阴干以及皂苷量的测定与统计。

### 2.5 羟基积雪草苷和积雪草苷的测定

**2.5.1 对照品溶液的制备** 取积雪草苷、羟基积雪草苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成含积雪草苷和羟基积雪草苷各 0.2 mg/mL 的溶液, 即得。

**2.5.2 供试品溶液的制备** 取本品粉末 (过 2 号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 20 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 180 W, 频率 42 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 80% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 离心, 取上清液, 即得。

羟基积雪草苷及积雪草苷的量参照《中国药典》2015 年版收载的积雪草测定方法进行测定<sup>[12]</sup>。色谱图见图 1。

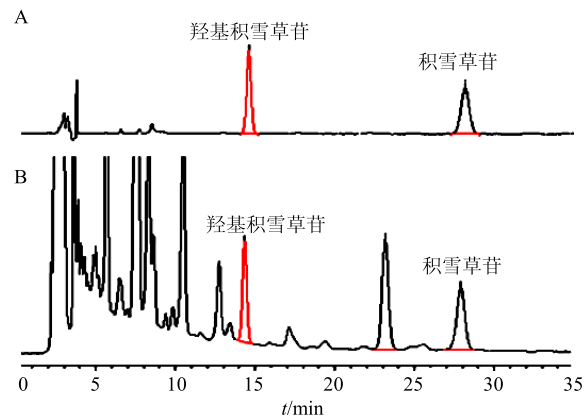


图 1 混合对照品 (A) 和供试品溶液 (B) HPLC 图

Fig.1 HPLC of *C. asiatica* reference substance (A) and test sample (B)

## 3 结果与分析

### 3.1 土壤类型考察结果

从表 2 结果看出, 土壤类型对积雪草的产量及皂苷量均有影响, 尤其对产量的影响较为显著, 以泥炭土-珍珠岩 (1:1) 的种植效果最好, 其产量、皂苷量及皂苷总量分别为泥炭土种植的 1.7、1.2、2.2 倍。

表 2 土壤类型对种植的影响

Table 2 Effect of soil type on the growth

| 土壤类型          | 产量/(g·株 <sup>-1</sup> ) | 皂苷/% | 皂苷总量/(g·株 <sup>-1</sup> ) |
|---------------|-------------------------|------|---------------------------|
| 泥炭土           | 4.747                   | 4.28 | 0.20                      |
| 药渣            | 7.717                   | 4.62 | 0.36                      |
| 泥炭土-珍珠岩 (1:1) | 8.250                   | 5.32 | 0.44                      |

### 3.2 种植密度与基肥考察结果

通过表 3、4 的正交试验数据及极差分析结果可以看出影响积雪草产量的主要因素是种植密度 (A), 其次是基肥用量 (C), 影响较小的为基肥配方 (B), 最佳组合为  $A_2B_3C_3$ ; 影响积雪草皂苷总量的主要因素是基肥用量 (C), 其次是基肥配方 (B), 种植密度 (A) 的影响最小, 最佳组合也为  $A_2B_3C_3$ 。综合以上分析, 积雪草最佳种植密度为  $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ 、以有机肥-复合肥 (1:1) 为基肥, 用量为  $7.5\text{ g/m}^2$ 。

表 3 种植密度与基肥对种植的影响

Table 3 Effects of planting density and base fertilizer on growth

| 实验组         | 产量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) | 皂苷/% | 皂苷总量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) |
|-------------|---------------------------------------|------|-----------------------------------------|
| $A_1B_1C_1$ | 53.2                                  | 4.92 | 2.61                                    |
| $A_1B_2C_2$ | 93.9                                  | 6.28 | 5.90                                    |
| $A_1B_3C_3$ | 122.8                                 | 4.50 | 5.54                                    |
| $A_2B_1C_2$ | 115.1                                 | 3.49 | 4.01                                    |
| $A_2B_2C_3$ | 150.3                                 | 4.14 | 6.21                                    |
| $A_2B_3C_1$ | 176.8                                 | 2.82 | 4.99                                    |
| $A_3B_1C_3$ | 144.7                                 | 3.71 | 5.38                                    |
| $A_3B_2C_1$ | 57.2                                  | 4.76 | 2.71                                    |
| $A_3B_3C_2$ | 102.3                                 | 6.94 | 7.10                                    |

表 4 种植密度与基肥正交分析结果

Table 4 Orthogonal analysis results of planting density and base fertilizer

| 项目   | 产量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) |     |     | 皂苷总量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) |      |      |
|------|---------------------------------------|-----|-----|-----------------------------------------|------|------|
|      | A                                     | B   | C   | A                                       | B    | C    |
| 均值 1 | 90                                    | 104 | 96  | 4.68                                    | 4.00 | 3.44 |
| 均值 2 | 147                                   | 100 | 104 | 5.07                                    | 4.94 | 5.67 |
| 均值 3 | 101                                   | 134 | 139 | 5.06                                    | 5.88 | 5.71 |
| 极差   | 57                                    | 34  | 43  | 0.39                                    | 1.88 | 2.27 |
| 因素主次 | $A > C > B$                           |     |     | $C > B > A$                             |      |      |
| 最优组合 | $A_2B_3C_3$                           |     |     | $A_2B_3C_3$                             |      |      |

### 3.3 施肥方式考察结果

施肥方式考察过程中, 先根据前期实验结果将植株以  $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$  的间隔定植, 以有机肥-复合肥 (1:1) 为基肥, 用量为  $7.5\text{ g/m}^2$ , 然后按施肥方案开展后续实验, 表 5 结果表明, 与定植 4 个月后不施肥 (G) 相比, 施肥方式对药材的产量与皂苷量均有影响, 二者呈负相关趋势: 定植 4 个月后施复合肥 (D) 的药材产量最高, 施钾肥 (F) 的产量最低; 而定植 4 个月后施钾肥 (F) 的药材皂苷量最高, 施复合肥 (D) 的最低。采用定植 4 个月后施尿素  $18\text{ g/m}^2$ 、5 个月后施复合肥  $45\text{ g/m}^2$  (E)

表 5 施肥方式对种植的影响

Table 5 Effect of fertilization method on growth

| 施肥方式 | 产量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) | 皂苷/% | 皂苷总量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) |
|------|---------------------------------------|------|-----------------------------------------|
| D    | 497.2                                 | 1.81 | 9.00                                    |
| E    | 397.9                                 | 2.60 | 10.35                                   |
| F    | 233.1                                 | 3.12 | 7.27                                    |
| G    | 346.8                                 | 2.85 | 9.88                                    |

的方式可在保证质量的同时获得较高产量。

### 3.4 荫蔽度考察结果

从表 6 实验结果看, 荫蔽度对种植效果有着显著影响, 荫蔽度为 75% 时种植的积雪草的产量、皂苷量、皂苷总量均最高, 分别是全光照组 (最差) 的 1.4、1.6、2.2 倍, 但荫蔽度达到 90% 时, 产量及皂苷量反而下降, 说明积雪草在一定光强范围内适宜阴生, 但荫蔽度不宜过高。

表 6 荫蔽度对种植的影响

Table 6 Effect of shading degree on growth

| 荫蔽度/% | 产量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) | 皂苷/% | 皂苷总量/( $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ ) |
|-------|---------------------------------------|------|-----------------------------------------|
| 全光照   | 215.7                                 | 3.75 | 8.09                                    |
| 50    | 277.3                                 | 5.01 | 13.9                                    |
| 75    | 295.6                                 | 6.12 | 18.1                                    |
| 90    | 227.4                                 | 5.71 | 13.0                                    |

综上所述, 人工种植积雪草的最佳条件是选择泥炭土-珍珠岩 (1:1) 的土地, 以  $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$  为种植密度, 有机肥/复合肥 (1:1) 为基肥, 用量为  $7.5\text{ g/m}^2$ , 定植 4 个月后施尿素, 5 个月后施复合肥, 在约 75% 荫蔽度下种植。按上述条件种植的积雪草皂苷量可达 6.12%, 产量以干质量计可达  $295.6\text{ g/m}^2$ , 皂苷总量合计  $18.1\text{ g/m}^2$ 。

### 4 讨论

积雪草在桂林地区于每年 2 月份左右长出幼苗, 到 7、8 月份时达到生长旺盛期, 11 月份植株逐渐枯萎, 通常在生长旺盛、产量较高时采收, 1 年只能采收 1 次。本实验为了提高种植产量, 还开展了采收方式的初步研究, 发现通过间隔采收的方式可使每年的采收次数增加至 2~3 次, 产量有所提高。具体方法是在 7 月份第 1 次采收时将种植地划分成数列一定宽度的纵列, 收一列, 留一列, 由于积雪草匍匐茎节节生根, 占空力强, 未采收的植株会向两旁空地生长, 如果气候条件好、植株生长较快, 约 2 个月后即可进行 2 次采收, 此时采收前

一次留下的老株,新株让其继续生长,到 11 月时全部收完。此方法较大程度上提高了种植产量,但间隔宽度如何划分以及积雪草二次生长需要多长时间才能保证提高产量的同时不影响药材质量,相关工作仍在继续开展。

研究中发现积雪草适合阴生,因此种植时需要人为控制光照强度,本研究采用的方法是搭建遮阴网,但此法不利于大面积种植。能否将积雪草与某些生长条件相近的农作物进行套种,利用作物本身为其提供适宜的生长环境,套种后积雪草的质量、产量以及种植成本等各方面与单独种植相比是否具有优势等,都值得继续深入研究。

#### 参考文献

- [1] 陈 瑶,秦路平,郑汉臣,等. 积雪草的资源分布与生药鉴别 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(4): 199-202.
- [2] 张晓梅. 野生植物资源积雪草的开发利用 [J]. 中国园艺文摘, 2011(11): 55-56.
- [3] 朱濂溪,唐兆祺. 单味积雪草治疗流行性腮腺炎 35 例 [J]. 福建中医药, 1990, 21(4): 45.
- [4] 崔文华,刘光亮,李尧宾,等. 积雪草治疗烧伤的止痛、防瘢痕疗效观察 [J]. 中医临床康复, 2002, 6(6): 839.
- [5] 张 彬,刘建国. 积雪草排毒汤治疗慢性肾功能衰竭 33 例临床疗效观察 [J]. 四川中医, 2007, 25(1): 47-48.
- [6] 王锦菊,王瑞国,王宝奎. 积雪草苷抗肿瘤作用的初步实验研究 [J]. 福建中医药, 2001, 32(4): 39-40.
- [7] 严明强,任 娟. 积雪草提取物在个人护理品中的应用 [J]. 香料香精化妆品, 2009, 12(2): 44-46.
- [8] Siddiqui B S, Aslam H, Ali S T, *et al.* Chemical constituents of *Centilla asiatica* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2007, 9(4): 407-414.
- [9] 贺 红,张燕玲,吴立蓉,等. 积雪草离体培养和快速繁殖方法探讨 [J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(3): 241-243.
- [10] 骆 鹰,李常健,于 静,等. 积雪草的组织培养与快速繁殖试验 [J]. 湖北农业科学, 2012, 51(10): 2132-2134.
- [11] 苏钰琴,蒋向军. 积雪草离体快繁技术研究 [J]. 现代农业科技, 2015(9): 72-73.
- [12] 中国药典 [S]. 一部. 2015.