

引用格式: 李薇, 夏妍姝, 张婉祺, 等. 栽培模式对金线莲表型与金线莲苷质量分数和叶片非绿色呈色影响[J]. 浙江农林大学学报, 2026, 43(X): 1-11. LI Wei, XIA Yanshu, ZHANG Wanqi, et al. Effects of cultivation modes on phenotype, kinsenoside content and non-green leaf coloration in *Anoectochilus roxburghii*[J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2026, 43(X): 1-11.

栽培模式对金线莲表型与金线莲苷质量分数和叶片非绿色呈色影响

李 薇¹, 夏妍姝¹, 张婉祺¹, 赵 利¹, 李水坤², 王红珍¹

(1. 浙江农林大学 食品与健康学院 浙江省特色中药资源保护与创新利用重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 建德市林业局, 浙江 建德 311600)

摘要: 【目的】组织培养、林下种植、大棚种植是金线莲 *Anoectochilus roxburghii* 的 3 种主要栽培模式, 但对金线莲苷积累及叶片呈色的影响尚不明确。本研究旨在阐明这 3 种栽培模式对金线莲表型和品质的影响。【方法】通过宏观、微观表型观察和测定, 分析栽培模式对金线莲表型的影响; 采用叶片颜色观察、数字化与代谢组分析栽培模式对金线莲叶片呈色的影响; 利用高效液相色谱-蒸发光散射检测器结合代谢组学分析栽培模式对金线莲苷积累的影响。【结果】3 种栽培模式下金线莲单株生物量、茎长、茎直径、叶片面积和根长是区分不同栽培模式金线莲的重要表型指标。茎段纵切面及叶下表皮微观结构分析表明: 细胞形态、大小及排列方式的差异是造成茎长、叶面积差异的核心原因。金线莲叶片呈色具有栽培模式特异性, 并呈“上深下浅”模式, 其中, 林下苗叶片颜色最深, 大棚苗次之, 组培苗最浅。叶片颜色是鉴别 3 种栽培模式金线莲的核心表型指标。槲皮素及其衍生物、山奈酚及其衍生物等 9 种代谢物积累模式与颜色表型一致, 其中, 6 种代谢物积累模式与叶片颜色数值呈显著负相关 ($P<0.05$), 是金线莲叶片呈色的主要色素。3 种栽培模式金线莲中均未检测到金线莲苷差异异构体, 金线莲苷主要积累于金线莲地上部分, 质量分数从高到低依次为林下苗、组培苗、大棚苗。【结论】林下栽培模式可同步提升金线莲生物量、叶片色泽与金线莲苷质量分数, 是优质优色金线莲精准栽培的优选模式。图 5 表 5 参 31

关键词: 金线莲; 组织培养; 林下种植; 大棚种植; 金线莲苷; 槲皮素及其糖苷; 山奈酚及糖苷

中图分类号: Q946.8 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2026)00-0001-11

Effects of cultivation modes on phenotype, kinsenoside content and non-green leaf coloration in *Anoectochilus roxburghii*

LI Wei¹, XIA Yanshu¹, ZHANG Wanqi¹, ZHAO Li¹, LI Shuikun², WANG Hongzhen¹

(1. Zhejiang Key Laboratory for Chinese Medicinal Resources Protection and Innovative Utilization, College of Food and Health, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Jiande Forestry Bureau, Jiande 311600, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] *Anoectochilus roxburghii* is the sole medicinal source for industrial production of kinsenoside and also serves as a material for ornamental bonsai. Currently, commercially available *A. roxburghii* is primarily derived from artificial cultivation. However, the effects of three main cultivation modes (tissue culture, understory planting, and greenhouse planting) on phenotype, kinsenoside accumulation, and leaf coloration remain unclear. This study aims to elucidate the effects of these three cultivation modes on the

收稿日期: 2026-02-13; 修回日期: 2026-08-05

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目 (LGG22H280001); 国家林业和草原局科技发展中心生物安全与遗传资源管理专项经费项目 (KJZXSA202306); 金华市重大科技计划项目 (2026-2-025)

作者简介: 李薇 (ORCID: 0009-0002-8497-1797), 从事中药功能因子及健康产品研究。E-mail: leewww888@163.com. 通信作者: 王红珍 (ORCID: 0000-0003-0905-5676), 副教授, 博士, 从事金线莲资源优化与改良研究。E-mail: Wang.hongzhen@163.com

phenotype and quality of *A. roxburghii*. [Method] The effects of cultivation modes on phenotype were analyzed using macroscopic and microscopic observations. Leaf coloration was investigated by color observation, digitization, and metabolomics. Kinsenoside accumulation was determined by HPLC-ELSD and metabolomics. [Result] Significant or non-significant differences in biomass per plant, stem length, stem diameter, leaf area, and root length were observed among the three modes. These indicators were the highest in understory-grown plants, followed by greenhouse-grown plants, and the lowest in tissue-cultured plants. Microstructural analysis showed that differences in cell morphology, size, and arrangement contributed to the variations in stem length and leaf area. Leaf coloration was mode-specific and showed a “dark adaxial and light abaxial” pattern. Understory-grown plants exhibited the deepest color, followed by greenhouse-grown plants, and tissue-cultured plants were the lightest. The accumulation patterns of rhodionin, quercetin-*O*-glucoside, kaempferol-3-*O*-galactoside, kaempferol, quercetin-3 β -pyranoglucosyl-6'-acetate, rutin, quercetin, quercetin-3 β -*D*-glucoside, and rhamnetin were consistent with leaf color phenotypes and showed negative correlations (significant or not) with color parameters. These metabolites are the main pigments for leaf coloration. No kinsenoside isomer was detected in plants of all three modes. Kinsenoside was mainly accumulated in aerial parts, with content ranked as: understory-grown > tissue-cultured > greenhouse-grown. [Conclusion] Understory cultivation can simultaneously improve biomass, ornamental leaf color, and kinsenoside content in *A. roxburghii*, representing the optimal mode for efficient cultivation of high-quality and high-color varieties. The results provide a scientific basis for quality evaluation and support precision breeding and standardized cultivation. [Ch, 5 fig, 5 tab. 31 ref.]

Key words: *Anoectochilus roxburghii*; tissue culture; understory planting; greenhouse cultivation; kinsenoside; quercetin and its glycosides; kaempferol and its glycosides

金线莲 *Anoectochilus roxburghii* 是兰科 Orchidaceae 濒危药用植物, 对急慢性肝炎、高血压、糖尿病等有疗效, 在民间有“药王”“神草”之称^[1]。金线莲药理学活性与其特有的活性成分金线莲苷密切相关, 该成分已获国家药品监督管理局一类新药临床批件 (批件号为 2023LP01541)。金线莲是工业化制备金线莲苷的唯一药源。同时, 金线莲株型小巧, 叶片卵圆形或卵形, 颜色艳丽^[2-3], 是制备观赏盆景的材料。然而, 金线莲野生资源濒危, 人工种植金线莲产量和质量不稳定^[4-9], 不能为工业化生产金线莲苷提供优质药源, 也无法持续为盆景制作提供优色材料, 从而遏制了金线莲产业的发展。实现优质优色金线莲精准育种是缓解这一困境的必要途径。栽培模式是影响中药材优质、优色品质形成的重要因素^[10-11]。然而, 金线莲主要栽培模式 (组织培养、林下种植及大棚种植) 对金线莲表型特征、金线莲苷积累及叶片呈色的影响尚不明确。

金线莲苷 (化学名为 3*R*- β -*D*-吡喃葡萄糖氧基- γ -丁内酯) 是金线莲特征性活性成分^[12-15], 是治疗多种肝病的有效药物。金线莲苷产量极低, 标准品价格高达 3.5~5.0 万元·g⁻¹, 限制了其广泛应用。从金线莲中分离、提取是工业化生产金线莲苷的唯一方法。金线莲苷差向异构体, 化学名为 3*S*- β -*D*-吡喃葡萄糖氧基- γ -丁内酯, 与金线莲苷具有相同的分子量, 相似的理化特性, 不同的药理学活性^[16], 是金线莲苷制备过程难以去除的杂质^[17]。根据金线莲中金线莲苷及其差向异构体质量分数将金线莲分为金线莲苷型和混合型 2 种化学型^[18]。混合型金线莲地上部分和金线莲苷型金线莲全草有望成为工业化制备金线莲苷的优质药源^[18-19]。然而, 目前尚不明确组织培养、林下种植和大棚种植如何影响金线莲化学型、金线莲苷质量分数及分布模式。金线莲叶片正面墨绿色, 具金红色带有绢丝光泽的网状网脉, 背面淡紫红色。金线莲叶片颜色具有“一品系一色泽”特征, 并呈现“上深下浅”模式^[18]。然而, 目前也不清楚组织培养、林下种植和大棚种植如何影响金线莲叶片呈色。

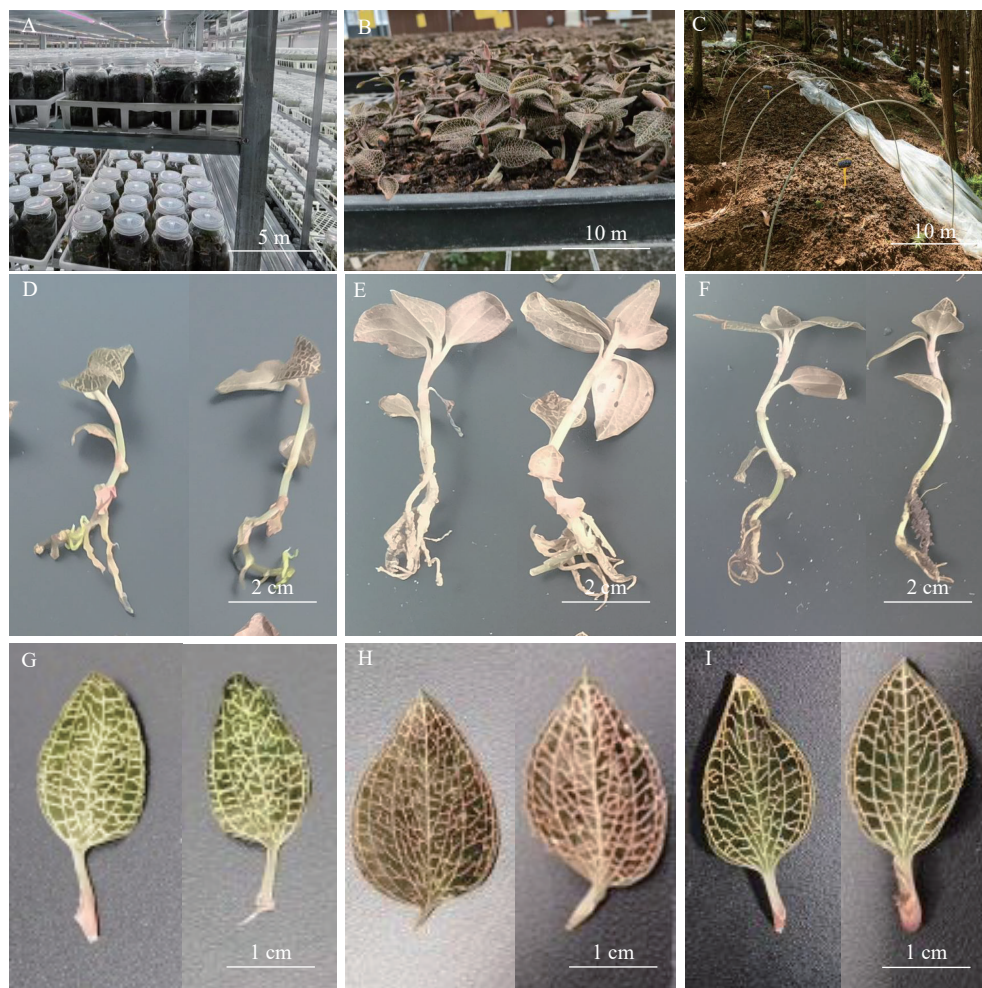
为解析金线莲主要栽培模式对金线莲表型和品质的影响, 本研究整合表型、高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 和代谢组学分析, 评价组织培养、林下种植和大棚种植对金线莲表型、化学

型、金线莲苷质量分数及其分布模式的影响。研究结果可为金线莲质量评价提供基础数据，为基于优质优色质量预测的金线莲精准育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

以苗高为 5~6 cm 的尖叶品系金线莲瓶苗(购自浙江省金华市荆龙生物科技有限公司)为种苗,分别经组织培养(图 1A)、大棚种植(图 1B)和林下种植(图 1C) 3 个月后,获组培苗、林下苗和大棚苗(图 1D~F)。组织培养在浙江农林大学中药学科组培室(30.15°N, 119.43°E)进行,培养条件:温度为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度为 75 %。大棚种植在浙江农林大学百草园(30.15°N, 119.43°E),种植条件:气温为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,光照条件为自然光加适当补光至光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗,相对湿度为 75 %,用兰科植物专用土穴盘种植。林下种植在浙江省杭州市杨村桥金线莲种植基地(29.57°N, 119.45°E),种植条件:白天及晴天时,杉木 *Cunninghamia lanceolata* 林下自然光照及温度,夜间低温及雨天通过覆盖塑料膜控制温度及雨水量,杉木林下原土种植。3 种栽培模式在 2024 年及 2025 年 4 月中旬至 6 月中旬各重复 1 次,共 2 次。采集组培苗、大棚苗和林下苗用于表型分析。采集金线莲全草、根、茎和叶,用于测定金线莲苷及其差向异构体质量分数。采集叶片用于代谢组学分析。



A.组织培养; B.大棚种植; C.林下种植; D.组培苗; E.林下苗; F.大棚苗。G.组培苗叶片; H.林下苗叶片; I.大棚苗叶片。

图 1 金线莲栽培模式、植株及叶片表型

Figure 1 Cultivation modes, plant and leaf phenotypes of *A. roxburghii*

1.2 金线莲表型分析

观察和测定组培苗、大棚苗和林下苗单株生物量、茎长和茎直径、叶片数目和叶片面积、根数和根长等指标。利用显微镜分析茎段纵切面和叶片下表皮细胞形态,并记录细胞长度、细胞宽度、单位面积

内表皮细胞的数量。每种栽培模式取样 10 株用于表型分析。观察金线莲叶片表面颜色, 并利用 ImageJ 软件中红色 (R)、绿色 (G) 和蓝色 (B) 检测方法对叶片表面颜色进行数值化分析, 叶片表面颜色值 = $0.299R + 0.587G + 0.114B$, 叶片表面非绿色颜色值 = $0.299R + 0.114B$ 。每种栽培模式取 30 片叶片进行分析。

1.3 HPLC-ELSD 测定金线莲中金线莲苷及差向异构体质量分数

金线莲中金线莲苷及差向异构体的分离、提取及质量分数测定参照本课题组已发表的方法^[18-19]。金线莲苷及其差向异构体标准曲线参照已发表文献^[19]。

1.4 非靶向代谢组测定

非靶向代谢组利用液相色谱-质谱联用 (LC-MS, LC, Vanquish UHPLC, Thermo Fisher; MS, Q Exactive™ HF-X, Thermo Fisher) 检测, 由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。称取样本 (100 mg) 置于 500 μL 的 80% 甲醇中匀浆, 冰浴 5 min, 15 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 20 min。上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后, 备用。所有样品重复 6 次。LC-MS 分析采用电喷雾电离正离子 (ESI^+) 和电喷雾电离负离子 (ESI^-) 模式。色谱分离条件: Hypersil Gold C18 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.9 μm), 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样体积为 2 μL , 流速为 0.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。ESI⁺离子模式用 0.1% 甲酸水 (A) 和甲醇 (B) 梯度洗脱, ESI⁻离子模式用 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵 (pH 9.0)(A) 和甲醇 (B) 梯度洗脱。ESI⁺和 ESI⁻离子模式洗脱条件: 2% B (0~1.5 min), 2%~85% B (1.5~3 min), 85%~100% B (3~10 min), 100%~2% B (10~11 min), 2% B (11~12 min)。电喷雾电离 (ESI) 源设置: 喷雾电压为 3.5 kV, 鞘气流速为 3 510 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 辅助气流速为 10 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, 离子传输管温度为 320 $^{\circ}\text{C}$, 辅助气加热器温度为 350 $^{\circ}\text{C}$ 。质谱 (MS) 扫描范围 [质荷比 (m/z)] 为 100~1 500, 原始 LC-MS/MS 数据利用 Compound Discoverer 3.1 软件进行峰对齐、提取与定量, 参数设置: 保留时间偏差为 0.2 min 和质量偏差为 5×10^{-6} 进行峰对齐, 设置质量偏差为 510^{-6} 、信号强度偏差 30%、信噪比 3、最小信号强度、加和离子等信息进行峰提取和代谢物定量。整合目标离子, 经与 mzCloud、mzVault 和 Masslist 数据库比对对定量结果进行标准化处理, 获得代谢物的鉴定和相对定量结果。使用京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库、人类代谢组数据库 (Human Metabolome Database, HMDB) 和脂质图谱数据库 (Lipid Metabolites and Pathways Strategy, LIPID MAPS) 进行注释。使用 metaX 对数据转换后进行主成分分析 (principal components analysis, PCA) 和偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA), 获得代谢物变量重要性投影值 (关于 VIP (variable importance in projection, VIP)。计算 2 组间代谢物差异倍数 (fold change, FC), 并通过 t 检验计算 2 组间各代谢物差异显著性 (P), 筛选差异代谢物 (DAMs) 参数为: $\text{VIP} > 1$, $P < 0.05$, 同时满足 $\text{FC} \geq 1.5$ 或 $\text{FC} \leq 0.67$, 其中 $\text{VIP} > 1$ 保证代谢物具备区分 2 组样本的模型分类能力; $P < 0.05$ 保障差异的统计学可信度; FC 阈值用于筛选具有显著生物学变化幅度的代谢物, 最终获得 DAMs。绘制 DAMs 交集韦恩图, 解析其在各比较组中的分布特征。

1.5 数据统计分析

宏观和微观表型指标、金线莲苷及其差向异构体质量分数用平均值 $\pm$ 标准差表示, 利用 SPSS 27.0 分析样品差异显著性。

2 结果与分析

2.1 通过表型特征区分林下苗、大棚苗和组培苗

与组培苗相比, 林下苗和大棚苗植株高大, 茎较长, 叶片面积大, 根数多, 根更长 (图 1), 且林下苗这些表型略优于大棚苗。表型指标测定结果与观察结果一致, 林下苗和大棚苗单株生物量、茎长、叶片面积和根长均显著 ($P < 0.05$) 高于组培苗 (表 1), 说明植株大小、茎长、叶片面积、根长是区分林下苗、大棚苗和组培苗的重要指标。

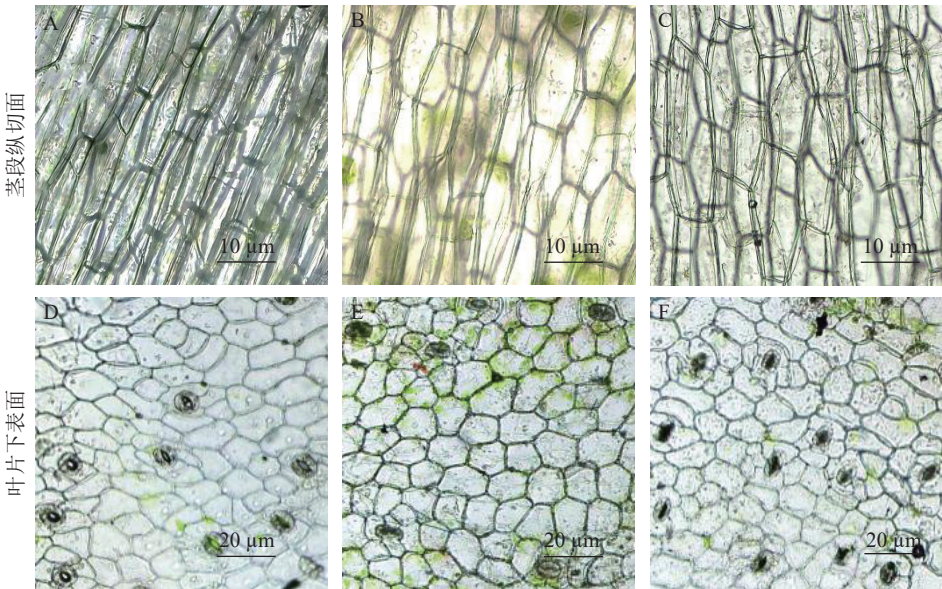
分析 3 种栽培模式金线莲茎段纵切面细胞形态可知: 组培苗茎段纵切面细胞呈长梭形, 细胞壁较厚, 细胞间隙小, 纵向紧密排列 (图 2A)。林下苗茎段纵切面细胞呈长纺锤形, 细胞壁较薄, 细胞间隙略大, 纵向疏松排列 (图 2B)。大棚苗茎段纵切面细胞呈短纺锤形, 细胞壁较厚, 细胞紧凑排列 (图 2C)。林下苗单个细胞最长、最宽, 大棚苗单个细胞长度、宽度居中, 组培苗单个细胞最短、最窄 (表 2)。该结果与 3 种栽培模式金线莲茎长和茎直径表型差异一致, 说明栽培模式通过影响细胞形态、大小和排列

表 1 3 种栽培模式金线莲表型指标

Table 1 Phenotypic indicators of <i>A. roxburghii</i> under 3 cultivation modes							
名称	生物量/g	茎长/mm	茎直径/mm	叶片数/张	叶片面积/cm ²	根数/条	根长/mm
组培苗	1.55 ± 0.48 b	117.15 ± 10.05 b	2.80 ± 0.32 a	4.30 ± 0.48 a	15.10 ± 3.12 b	4.20 ± 1.49 a	75.71 ± 14.50 b
林下苗	2.38 ± 0.51 a	135.84 ± 10.53 a	2.78 ± 0.47 a	4.70 ± 0.82 a	22.65 ± 6.36 a	4.90 ± 1.10 a	149.89 ± 78.55 a
大棚苗	2.29 ± 0.38 a	130.89 ± 9.02 a	3.05 ± 0.38 a	4.80 ± 0.63 a	22.60 ± 3.49 a	4.80 ± 0.79 a	129.98 ± 29.24 a

说明：同列不同小写字母表示不同栽培模式间差异显著 ($P<0.05$)。

方式影响茎长。分析金线莲叶片下表面表皮细胞形态、气孔形态及气孔数目可知：3 种栽培模式金线莲叶片下表面表皮细胞均呈不规则多边形，叶绿体少(图 2D~F)。气孔呈卵圆形或椭圆形，由 2 个肾形保卫细胞和 2~3 个形态不规则副卫细胞组成，气孔张开或关闭(图 2D~F)。其中，组培苗叶片表皮细胞垂周壁较平直，细胞排列紧密且规则，细胞间隙较小(图 2D)，气孔数目居中(表 2)。林下苗叶片表皮细胞垂周壁呈波浪状弯曲，细胞排列较疏松，细胞间隙较大(图 2E)，气孔数目最少(表 2)。大棚苗叶片表皮细胞垂周壁平直，细胞排列疏松且杂乱，细胞间隙明显(图 2F)，气孔数目最多(表 2)。该结果说明栽培模式通过影响表皮细胞形态、大小和排列方式影响叶片面积。



A、D. 组培苗；B、E. 林下苗；C、F. 大棚苗。

图 2 3 种栽培模式金线莲茎段纵切面和叶片下表面显微结构

Figure 2 Longitudinal sections of stems and microscopic structures of the lower leaf surface of *A. roxburghii* under 3 cultivation modes

表 2 3 种栽培模式金线莲茎段纵切面细胞长、宽及叶片下表面气孔密度

Table 2 Cell length, cell width of stem longitudinal sections, and stomatal density on lower leaf surfaces of <i>A. roxburghii</i> under 3 cultivation modes			
名称	茎段纵切面单个细胞长/ μm	茎段纵切面单个细胞宽/ μm	气孔密度/(个 $\cdot\text{mm}^{-2}$)
组培苗	11.46 ± 0.70 c	3.38 ± 0.32 c	880.0 ± 83.7 c
林下苗	16.46 ± 0.70 a	6.36 ± 0.32 a	680.0 ± 83.7 b
大棚苗	14.49 ± 0.70 b	4.45 ± 0.32 b	1 180.0 ± 83.7 a

说明：同列不同小写字母表示不同栽培模式间差异显著 ($P<0.05$)。

2.2 叶片颜色是区分 3 种栽培模式金线莲的核心指标

3 种栽培模式金线莲叶片下表面呈淡红棕色(图 1D~F)。组培苗叶片上表面为淡绿色，具淡黄色叶脉(图 1G)；林下苗叶片上表面为深绿色，具金红色叶脉(图 1H)；大棚苗叶片上表面颜色为墨绿色，具金黄色叶脉(图 1I)。3 种栽培模式金线莲叶片呈色各异，具有“一种栽培模式，一种叶片颜色”特征，并呈现显著的“上深下浅”模式。对 3 种栽培模式叶片上表面颜色进行数值化分析，数值越大，表明叶片表面颜色越浅，反之越深。3 种栽培苗中，组培苗叶片颜色数值最大，大棚苗叶片颜色次之，林下苗

叶片表面颜色数值最低(表 3)。叶片颜色数值化分析结果与叶片颜色表型差异基本一致,说明叶片颜色是区分 3 种栽培模式金线莲的核心指标。

表 3 3 种栽培模式金线莲叶片颜色数值

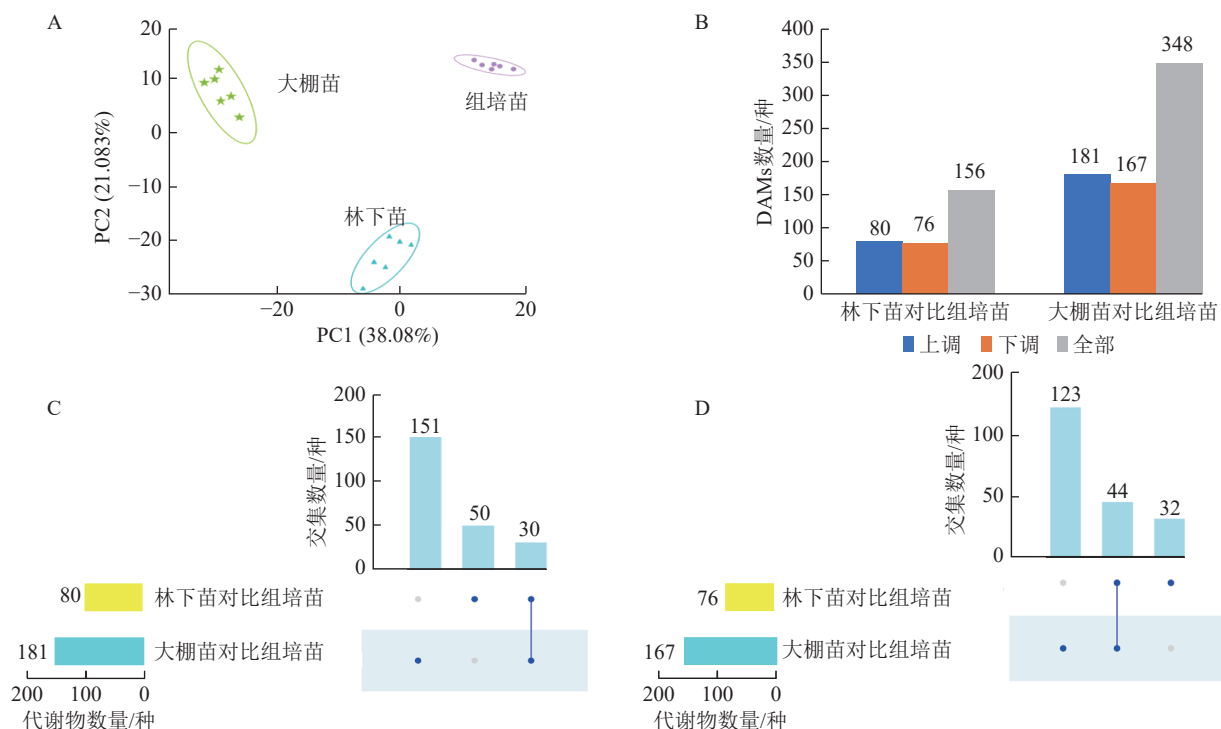
Table 3 Leaf color values of *A. roxburghii* under 3 cultivation modes

名称	红色	绿色	蓝色	叶片表面颜色	非绿色颜色
组培苗	172.36±4.66 a	165.63±4.02 a	116.11±1.81 a	161.97±3.43 a	64.70±1.60 a
林下苗	142.97±0.59 b	120.65±0.69 c	104.29±0.76 b	122.61±0.66 c	50.05±0.28 c
大棚苗	153.85±0.30 b	141.58±11.57 b	103.24±11.63 b	132.88±9.67 b	57.48±4.52 b

说明: 同列不同小写字母表示不同栽培模式间差异显著 ($P<0.05$)。

2.3 3 种栽培模式下金线莲叶片的代谢组学分析

从 3 种栽培模式金线莲叶片中共鉴定到 1 266 种代谢物。主成分分析结果显示: 3 种栽培模式金线莲代谢组沿 2 个主成分明显分开, 同一栽培模式样品聚在一起, 说明 3 种栽培模式金线莲叶片代谢组差异显著(图 3A)。分析林下苗对比组培苗、大棚苗对比组培苗 2 个比组中的 DAMs 数量。结果表明: DAMs 数量分别为 156 种(80 种上调, 76 种下调)和 348 种(181 种上调, 167 种下调, 图 3B)。2 个比较对中共有 DAMs 74 种(30 种上调, 44 种下调), 林下苗对比组培苗和大棚苗对比组培苗中组别特异性上调 DAMs 分别有 50 和 151 种(图 3C), 组别特异性下调 DAMs 分别有 32 和 123 种(图 3D), 说明 3 种栽培模式金线莲叶片中 DAMs 积累模式存在明显差异。这些数据为解析栽培模式对叶片中金线莲苷积累和呈色影响奠定了基础。



A. 主成分分析; B. 林下苗对比组培苗和大棚苗对比组培苗中 DAMs 数目, 橙色表示上调, 蓝色表示下调, 灰色表示总数。C. 2 个比较对中上调 DAMs 的集合交集图; D. 基于 2 个比较组下调 DAMs 绘制 UpSet 交集图。图上方竖直线状图代表各类交集/特有集合对应的下调 DAMs 数量; 左侧水平条形及标注数值分别对应各比较组包含的全部下调 DAMs 总数; 条形右侧点阵矩阵内, 实心圆点表示该组别纳入当前交集组合, 灰色圆点表示不纳入; 多个实心圆点通过竖线连接代表组别间共有下调 DAMs; 仅存在单个实心圆点无连线时, 代表该组别特有的下调 DAMs。

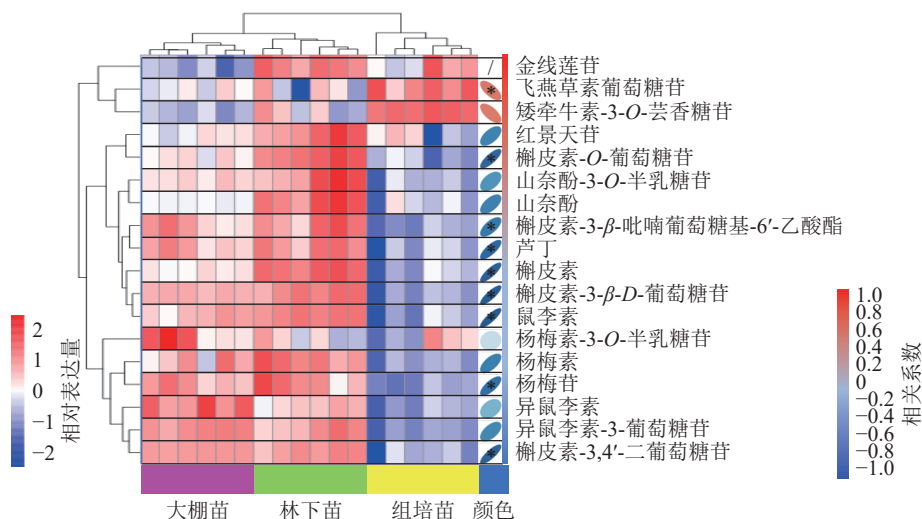
图 3 3 种栽培模式金线莲代谢组学

Figure 3 Metabolomics of *A. roxburghii* under 3 cultivation modes

2.4 3 种栽培模式下金线莲叶片呈色物质的筛选

从 2 个比较对的上调 DAMs 中共筛选到 15 种呈色相关代谢物, 全部为黄酮醇(图 4 和表 4), 说明黄酮醇是 3 种栽培模式金线莲叶片呈色的主要色素。这 15 种代谢物在 3 种栽培模式金线莲叶片中积累模

式分为 2 类：第 1 类包括红景天苷、槲皮素-*O*-葡萄糖苷、山奈酚-3-*O*-半乳糖苷、山奈酚、槲皮素-3 β -吡喃葡萄糖基-6'-乙酸酯、芦丁、槲皮素、槲皮素-3- β -*D*-葡萄糖苷和鼠李素。这些代谢物在林下苗叶片中相对含量最高，大棚苗叶片中相对含量次之，组培苗叶片中相对含量最低 (图 4 和表 4)。这些代谢物在金线莲叶片中的积累模式与叶片颜色表型差异一致，其中，6 种代谢物积累模式与叶片颜色数值差异显著负相关 ($P < 0.05$, 图 4)，表明这 6 种黄酮醇是 3 种栽培模式金线莲叶片呈色的主要色素，红景天苷、山奈酚-3-*O*-半乳糖苷和山奈酚非显著负相关，暗示代谢物在 3 种栽培模式金线莲叶片呈色中或具有重要作用。第 2 类包括：杨梅素-3-*O*-半乳糖苷、杨梅素、杨梅苷、异鼠李素、异鼠李素-3-葡萄糖苷和槲皮素-3,4'-二葡萄糖苷。这些代谢物在林下苗和大棚苗叶片中相对含量相似，高于组培苗叶片中相对含量 (图 4 和表 4)，其积累模式与叶片颜色差异相似，其中，杨梅苷和槲皮素-3,4'-二葡萄糖苷积累模式与叶片颜色数值显著负相关 ($P < 0.05$)。以上结果说明：在金线莲叶片呈色中，这些代谢物或具有重要作用。另外，在 2 个比较对下调 DAMs 中筛选到飞燕草素葡萄糖苷和矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷 2 种花青素，这 2 种代谢物在组培苗中相对含量高于林下苗和大棚苗，其积累模式与金线莲叶片呈色表型相反，其中，飞燕草素葡萄糖苷积累模式与颜色数值显著正相关 ($P < 0.05$)，矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷积累模式与颜色数值非显著正相关 (图 4 和表 4)，说明它们在 3 种栽培模式金线莲叶片呈色中作用微弱。



热图矩阵内方格代表各代谢物在样本中的相对积累水平。左侧纵向色阶标尺为代谢物相对定量值Z分数 (Z-score) 标准化得分 (范围-2~2)，体现质量分数偏离均值程度：红色越高代表积累量越高，白色代表质量分数接近平均水平，蓝色越深代表积累量越低。右侧色阶对应皮尔逊相关系数，红色为正相关、蓝色为负相关，颜色越深相关性越强；*代表显著 ($P < 0.05$) 相关。置信椭圆左下-右上倾斜为正相关，左上-右下倾斜为负相关；椭圆越细长相关性越强，趋近圆形则相关性较弱。/表示没有进行相关性分析。

图 4 3 种栽培模式金线莲中金线莲苷和呈色相关代谢物分布热图及呈色相关代谢物和叶片颜色数值相关性分析

Figure 4 Distribution of kinsenoside and color-related metabolites in *A. roxburghii* under 3 cultivation modes, and correlation analysis between color-related metabolites and leaf color value

2.5 3 种栽培模式金线莲中金线莲苷及其差向异构体分布模式

利用 HPLC-ELSD 分析 3 种栽培模式金线莲全草、根、茎和叶片中金线莲苷及其差向异构体质量分数，所有组织中均检测不到金线莲苷差向异构体，只含有金线莲苷 (表 5 和图 5)，因此，3 种模式栽培的均为金线莲苷型金线莲，说明栽培模式不影响金线莲化学型。金线莲茎和叶片中金线莲苷质量分数远高于根中，均呈地上部分优势分布，说明栽培模式不影响金线莲苷分布模式。林下苗全草、根、茎和叶片中金线莲苷质量分数均最高，组培苗中次之，大棚苗中最低，说明栽培模式影响金线莲苷质量分数。利用代谢组学和 HPLC-ELSD 分析 3 种栽培模式中金线莲苷积累模式，分析结果一致 (图 1、图 4、表 1 和表 5)，说明这 2 种分析方法都可以准确对金线莲中金线莲苷进行定性定量分析。

3 讨论

金线莲兼具药用和观赏价值，然而，金线莲野生资源濒临枯竭，市售金线莲产品以人工栽培为主。

表 4 3 种栽培模式金线莲叶片呈色相关代谢物及金线莲苷积累模式

代谢物	分子式	分子量	保留时间/min	样本组平均峰面积			F_C (林下苗 对比组培苗)	F_C (大棚苗 对比组培苗)
				林下苗	大棚苗	组培苗		
山奈酚-3- <i>O</i> -半乳糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.10	5.58	82 761 714.06	18 200 905.57	5 937 831.55	13.94	3.07*
山奈酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.05	5.55	71 830 073.67	10 126 566.84	7 122 341.12	10.09	1.42
槲皮素-3- β - <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.10	5.44	498 355 861.22	278 608 887.16	58 990 040.32	8.45*	4.72**
槲皮素-3- β -吡喃葡萄糖基-6'-乙酸酯	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	506.11	5.49	13 076 535.97	8 018 878.22	1 605 444.80	8.15	4.99
槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.04	5.47	1 093 362 589.56	309 242 833.28	154 167 357.96	7.09**	2.01
鼠李素	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.06	4.99	3 560 894.43	2 399 029.97	1 014 029.88	3.51*	2.37**
芦丁	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	282.07	5.43	110 4391 225.05	858 910 817.17	367 035 144.56	3.01**	2.34*
草质素苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.10	7.37	907 063.36	470 969.28	411 183.83	2.21	1.15
槲皮素- <i>O</i> -葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.10	8.66	1 322 240.44	834 116.34	622 380.41	2.12*	1.34
杨梅素-3- <i>O</i> -半乳糖苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	480.09	4.96	4 445 195.92	8 919 418.11	4 318 637.53	1.03	2.07
杨梅素	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	318.04	5.12	6 872 881.49	5 255 397.20	2 746 209.88	2.50*	1.91
杨梅苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.10	5.22	20 230 797.83	18 785 122.30	11 871 927.24	1.70	1.58*
异鼠李素	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.06	6.00	74 759 573.19	239 505 172.13	15 907 498.80	4.70*	15.06
异鼠李素-3-葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	478.11	5.58	132 777 859.96	155 325 252.63	9 818 351.89	13.52	15.82*
槲皮素-3,4'-二- <i>O</i> -葡萄糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	626.15	5.33	557 689 050.93	512 265 669.30	90 100 955.00	6.19*	5.69**
金线莲苷	C ₁₀ H ₁₆ O ₈	264.08	1.78	12 350 087 228.67	8 517 203 897.67	10 828 087 152.00	1.14*	0.79*
飞燕草素葡萄糖苷	C ₂₁ H ₂₁ ClO ₁₂	500.07	4.86	1 149 184.12	1 202 454.76	1 677 140.85	0.69	0.72
矮牵牛素-3- <i>O</i> -芸香糖苷	C ₂₈ H ₃₃ O ₁₆	625.17	5.23	2 158 851.50	1 239 224.25	5 972 002.34	0.36**	0.21**

说明：*表示差异显著 ($P<0.05$)；**表示差异极显著 ($P<0.01$)。

组织培养、大棚种植及林下种植是人工栽培金线莲的主要模式。通过分析 3 种栽培模式金线莲株型大小、茎长和茎直径、叶片面积和根长，可有效区分组培苗、大棚苗和林下苗。茎段纵切面及叶片下表面细胞的形态、大小与排列方式存在差异，这是导致 3 种栽培模式金线莲茎长和叶片面积不同的根本原因。通过宏观观察、微观表征结合数字化分析金线莲表型特征来区分 3 种栽培模式的金线莲，契合传统中药材“辨状论质”的核心本质^[20-22]。在 3 种栽培模式中，林下苗的单株生物量最大，叶片面积最大，茎长、茎直径与根长度也最大，表明林下种植是提升金线莲产量的有效策略。

表 5 3 种栽培模式金线莲中金线莲苷质量分数

名称	金线莲苷/(mg·g ⁻¹)			
	全草	根	茎	叶片
组培苗	5.84±0.46 b**	2.22±0.14 b	6.14±0.33 a**	4.67±0.30 b**
大棚苗	1.92±0.38 c**	0.81±0.01 c	2.48±0.18 b**	1.73±0.11 c*
林下苗	7.31±0.24 a**	2.53±0.13 a	6.93±1.09 b**	5.43±0.06 a**

说明：同列不同小写字母表示不同栽培模式间差异显著 ($P<0.05$)；*和**分别表示同一栽培模式下金线莲其他部位与根相比差异显著 ($P<0.05$) 和差异极显著 ($P<0.01$)。

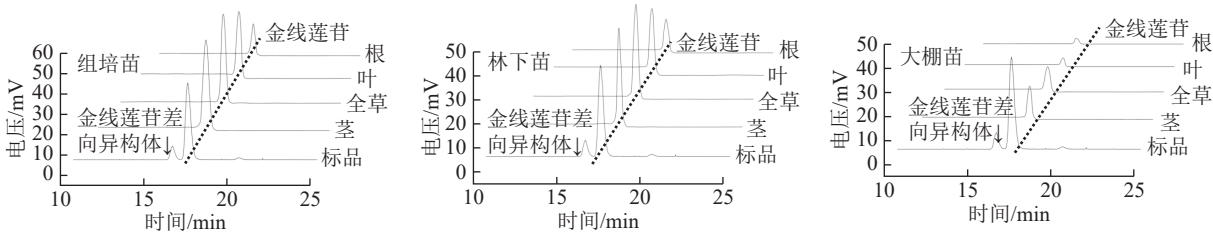


图 5 3 种栽培模式金线莲中金线莲苷及其差向异构体色谱图

Figure 5 Chromatograms of kinsenoside and its isomer of *A. roxburghii* under 3 cultivation modes

色泽是中药材“优形”的典型表现之一,也是“辨状论质”的核心内容^[21]。3 种栽培模式金线莲叶片呈色各异,提示栽培模式是影响金线莲叶片呈色的重要因素。其中,林下苗叶片表面颜色最深,预示通过林下种植有望实现优色金线莲的精准育种。植物外在色泽的形成,根本原因在于内在色素的积累^[21,23-24],黄酮醇、花青素、类胡萝卜素及甜菜素是植物中常见的 4 类非绿色色素^[23-29]。本研究在林下苗对比组培苗、大棚苗对比组培苗的上调 DAMs 中只筛选到黄酮醇,表明 DAMs 是引发 3 种栽培模式金线莲叶片非绿色呈色差异的关键色素,也是导致不同品系金线莲叶片呈色差异的主要色素^[18]。

中药材的外在色泽优势源于其内在色素的积累^[21]。3 种栽培模式金线莲呈现“一种栽培模式,一种叶片颜色”的特征,说明其内在色素的种类或相对含量存在差异。3 种栽培模式金线莲中,9 种黄酮醇的积累模式与叶片非绿色颜色表型一致,其中,6 种积累模式与叶片非绿色颜色数值呈显著负相关,是引起 3 种栽培模式金线莲叶片非绿色差异的主要色素。该研究结果与黄酮醇(尤其是槲皮素、山奈酚及其糖苷)使植物呈现黄色或金黄色^[23-28]的报道一致。另外,在 3 种栽培模式金线莲中,6 种黄酮醇积累模式与叶片颜色表型差异相似,说明这些黄酮醇在 3 种栽培模式金线莲叶片呈色中或具有着重要作用。矮牵牛素、飞燕草素及其糖苷可使植物呈现粉色、红色、红棕色或紫色^[23-24],飞燕草素葡萄糖苷和矮牵牛素-3-*O*-芸香糖苷在 3 种栽培模式金线莲叶片中的作用微弱,与叶片表面的黄酮醇叠加后,共同形成金线莲叶脉的金黄色或金红色^[18]。

根据金线莲中是否存在金线莲苷差向异构体,可将其分为金线莲苷型和混合型 2 种化学型^[18-19]。本研究中,3 种栽培模式的金线莲均未检测到金线莲苷差向异构体,且金线莲苷均呈地上部分优势分布,表明栽培模式不影响金线莲的化学型及金线莲苷的分布模式。在 3 种栽培模式中,林下苗全草、根、茎和叶中的金线莲苷质量分数均最高,说明栽培模式是影响金线莲苷质量分数的重要因素,进一步证实林下种植是实现优质金线莲精准育种的有效策略^[30-31]。

4 结论

本研究分析了组织培养、大棚种植和林下种植对金线莲表型和品质的影响。植株大小、茎长和茎直径、叶片面积和根长是区分组培苗、林下苗和大棚苗的重要表型指标,其中,林下苗表型指标数值均最大,林下种植是提升金线莲产量的有效措施。叶片颜色是区分 3 种栽培模式金线莲的核心指标,林下苗叶片中黄酮醇(尤其是山奈酚、槲皮素及衍生物)相对含量最高,颜色最深,林下种植是实现优色金线莲精准育种的有效策略。林下苗中金线莲苷质量分数最高,林下种植是实现优质金线莲精准育种的有效措施。

5 参考文献

- [1] YE Shenyi, SHAO Qingsong, ZHANG Ailian. *Anoectochilus roxburghii*: a review of its phytochemistry, pharmacology, and clinical applications[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, **209**: 184–202. DOI: 10.1016/j.jep.2017.07.032.
- [2] 《浙江植物志(新编)》编辑委员会. 浙江植物志(新编): 第 10 卷[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2021: 212–220. Editorial Committee of Flora of Zhejiang (New Edition). *Flora of Zhejiang (New Edition) Vol: 10*[M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 2021: 212–220.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 17 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 220. Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. *Flora of China: Vol. 17*[M]. Beijing: Science Press, 1999: 220.
- [4] 邵清松, 叶申怡, 周爱存, 等. 金线莲种苗繁育及栽培模式研究现状与展望[J]. *中国中药杂志*, 2016, **41**(2): 160–166. SHAO Qingsong, YE Shenyi, ZHOU Aicun, *et al.* Current researches and prospects of seedling propagation and cultivation modes of *Jinxianlian*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, **41**(2): 160–166. DOI: 10.4268/cjcm.20160202.
- [5] 朱建军, 黄雨佳, 金建红, 等. 不同栽培基质对金线莲 3 种基原植物生长及其活性成分含量的影响[J]. *中国中药杂志*, 2019, **44**(12): 2467–2471. ZHU Jianjun, HUANG Yujia, JIN Jianhong, *et al.* Effect of cultivation substrate on growth and active component contents of *Anoectochilus roxburghii* from three different origins[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, **44**(12): 2467–2471. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20190505.103.
- [6] 陈莹, 王文义, 湛赛男, 等. 不同品系及生长期金线莲的金线莲苷含量变化研究[J]. *中国现代中药*, 2021, **23**(8):

- 1423–1429. CHEN Ying, WANG Wenyi, CHEN Sainan, *et al.* Changes in kinsenoside content of different strains of *Anoectochilus roxburghii* at different growth periods[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2021, **23**(8): 1423–1429. DOI: [10.13313/j.issn.1673-4890.20200911001](https://doi.org/10.13313/j.issn.1673-4890.20200911001).
- [7] 张超, 吴建国, 易骏, 等. HPLC-ELSD 法测定 3 种植物基原金线莲的金线莲苷含量[J]. *食品工业科技*, 2017, **38**(2): 75–78. ZHANG Chao, WU Jianguo, YI Jun, *et al.* Content determination of kinsenoside in Jin-Xian-Lian from three *Anoectochilus* species by HPLC-ELSD[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, **38**(2): 75–78. DOI: [10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.006](https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.006).
- [8] ZHANG Wenting, CHEN Ke, MEI Yu, *et al.* De novo transcriptome assembly of *Anoectochilus roxburghii* for morphological diversity assessment and potential marker development[J]. *Plants*, 2024, **13**(23): 3262. DOI: [10.3390/plants13233262](https://doi.org/10.3390/plants13233262).
- [9] 黄锦春, 万思琦, 陈扬, 等. 利用 ISSR 与 SRAP 分子标记分析金线莲种质资源遗传多样性[J]. *浙江农林大学学报*, 2023, **40**(1): 22–29. HUANG Jinchun, WAN Siqi, CHEN Yang, *et al.* Genetic diversity of *Anoectochilus roxburghii* based on ISSR and SRAP molecular markers[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(1): 22–29. DOI: [10.11833/j.issn.2095-0756.20220473](https://doi.org/10.11833/j.issn.2095-0756.20220473).
- [10] 袁媛, 郑汉, 黄璐琦. 再论道地药材“优形、优质、优效”特征成因及研究模式[J]. *中国中药杂志*, 2024, **49**(15): 3977–3985. YUAN Yuan, ZHENG Han, HUANG Luqi. Review of contributing factors and research model of “excellent shape, high quality, and superior effect” of Dao-di herbs[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2024, **49**(15): 3977–3985. DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20240516.103](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20240516.103).
- [11] 袁媛, 黄璐琦. 道地药材评价理论的传承与创新[J]. *中国中药杂志*, 2025, **50**(13): 3522–3528. YUAN Yuan, HUANG Luqi. Inheritance and innovation: theoretical evolution in assessing Dao-di herbs[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2025, **50**(13): 3522–3528. DOI: [10.19540/j.cnki.cjmm.20250506.101](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20250506.101).
- [12] QI Changxing, ZHOU Qun, YUAN Zhou, *et al.* Kinsenoside: a promising bioactive compound from *Anoectochilus* species[J]. *Current Medical Science*, 2018, **38**(1): 11–18. DOI: [10.1007/s11596-018-1841-1](https://doi.org/10.1007/s11596-018-1841-1).
- [13] 王建栋, 王红珍, 张爱莲, 等. 金线莲苷研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, **35**(19): 1795–1798, 1802. WANG Jiandong, WANG Hongzhen, ZHANG Ailian, *et al.* Recent advances in kinsenoside studies[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2015, **35**(19): 1795–1798, 1802. DOI: [10.13286/j.cnki.chinhosp pharmacy.2015.19.22](https://doi.org/10.13286/j.cnki.chinhosp pharmacy.2015.19.22).
- [14] ZOU Xiaoxue, ZHANG Kexin, LI Xuezhen, *et al.* Current advances on the phytochemistry, pharmacology, quality control and applications of *Anoectochilus roxburghii*[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2025, **15**: 1527341. DOI: [10.3389/fphar.2024.1527341](https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1527341).
- [15] XIANG Ming, LIU Tingting, TIAN Cheng, *et al.* Kinsenoside attenuates liver fibro-inflammation by suppressing dendritic cells via the PI3K-AKT-FoxO1 pathway[J]. *Pharmacological Research*, 2022, **177**: 106092. DOI: [10.1016/j.phrs.2022.106092](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106092).
- [16] DU Xiaoming, IRINO N, FURUSHO N, *et al.* Pharmacologically active compounds in the *Anoectochilus* and *Goodyera* species[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2008, **62**(2): 132–148. DOI: [10.1007/s11418-007-0169-0](https://doi.org/10.1007/s11418-007-0169-0).
- [17] ZHANG Feng, HAN Bei, LI Peng, *et al.* Design, synthesis and hepatoprotective activity of analogs of the natural product goodyeroside A[J]. *Molecules*, 2013, **18**(2): 1933–1948. DOI: [10.3390/molecules18021933](https://doi.org/10.3390/molecules18021933).
- [18] WANG Hongzhen, LI Lulu, YE Junzhe, *et al.* Integrated phenotypic, DNA barcoding, chemotypic, metabolomic, and transcriptomic analyses for quality assessment of *Anoectochilus roxburghii* and identification of key metabolites and enzyme genes in kinsenoside biosynthesis and leaf non-green coloration[J]. *Industrial Crops and Products*, 2025, **235**: 121770. DOI: [10.1016/j.indcrop.2025.121770](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121770).
- [19] 李璐璐, 朱志彬, 李水坤, 等. 金线莲中金线莲苷及其差向异构体和内源激素测定[J]. *浙江农林大学学报*, 2025, **42**(2): 230–238. LI Lulu, ZHU Zhibin, LI Shuikun, *et al.* Detection of kinsenoside and its isomer, endogenous hormones in *Anoectochilus roxburghii*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, **42**(2): 230–238. DOI: [10.11833/j.issn.2095-0756.20240435](https://doi.org/10.11833/j.issn.2095-0756.20240435).
- [20] 谢宗万. 中药品种传统经验鉴别“辨状论质”论[J]. *时珍国药研究*, 1994, **5**(3): 19–21. XIE Zongwan. On “differentiation of symptoms and quality” in traditional experience identification of traditional Chinese medicine varieties[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 1994, **5**(3): 19–21.

- [21] 刘天睿, 金艳, 孟虎彪, 等. 论中药“辨状论质”之辨色泽与品质评价的生物学内涵研究[J]. *中国中药杂志*, 2020, **45**(19): 4545–4554. LIU Tianrui, JIN Yan, MENG Hubiao, *et al.* Biological research of color and quality evaluation in “quality discrimination by character” of Chinese medicine[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, **45**(19): 4545–4554. DOI: [10.19540/j.cnki.cjcmm.20200726.102](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20200726.102).
- [22] 王皓南, 田滢琦, 刘大会, 等. 中药“辨状论质”的历史、发展与应用[J]. *中药材*, 2021, **44**(3): 513–519. WANG Haonan, TIAN Yingqi, LIU Dahui, *et al.* History, development and application of the traditional Chinese medicine “quality evaluation through morphological identification”[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021, **44**(3): 513–519. DOI: [10.13863/j.issn1001-4454.2021.03.001](https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2021.03.001).
- [23] TANG Qian, LI Zhibo, CHEN Ningxin, *et al.* Natural pigments derived from plants and microorganisms: classification, biosynthesis, and applications[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, **23**(2): 592–614. DOI: [10.1111/pbi.14522](https://doi.org/10.1111/pbi.14522).
- [24] 张和臣, 袁欣, 高杰, 等. 植物花瓣呈色机理及花色分子育种[J]. *生物技术通报*, 2023, **39**(5): 23–31. ZHANG Hechen, YUAN Xin, GAO Jie, *et al.* Mechanism of flower petal coloration and molecular breeding[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, **39**(5): 23–31. DOI: [10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-1229](https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2022-1229).
- [25] FANG Zhoutao, SONG Chujun, XU Hairong, *et al.* Dynamic changes in flavonol glycosides during production of green, yellow, white, oolong and black teas from *Camellia sinensis* L. (cv. Fudingdabaicha)[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, **54**(2): 490–498. DOI: [10.1111/ijfs.13961](https://doi.org/10.1111/ijfs.13961).
- [26] FENG Yi, LI Jiyuan, YIN Hengfu, *et al.* Multi-omics analysis revealed the mechanism underlying flavonol biosynthesis during petal color formation in *Camellia nitidissima*[J]. *BMC Plant Biology*, 2024, **24**(1): 847. DOI: [10.1186/s12870-024-05332-w](https://doi.org/10.1186/s12870-024-05332-w).
- [27] LI Yaohua, RAN Lingfang, MO Tong, *et al.* Yellow petal locus GaYP promotes flavonol biosynthesis and yellow coloration in petals of Asiatic cotton (*Gossypium arboreum*)[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, **136**(5): 98. DOI: [10.1007/s00122-023-04329-7](https://doi.org/10.1007/s00122-023-04329-7).
- [28] JIANG Lina, HAN Leiqin, ZHANG Wenxuan, *et al.* Elucidation of the key flavonol biosynthetic pathway in golden *Camellia* and its application in genetic modification of tomato fruit metabolism[J]. *Horticulture Research*, 2025, **12**(2): uhae308. DOI: [10.1093/hr/uhae308](https://doi.org/10.1093/hr/uhae308).
- [29] 张恒滨, 黄玲, 胡先梅, 等. 郁金香二氢黄酮醇 4-还原酶基因 *TgDFR1* 和 *TgDFR2* 的克隆与功能鉴定[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2025, **51**(1): 118–127. ZHANG Hengbin, HUANG Ling, HU Xianmei, *et al.* Cloning and functional identification of the dihydroflavonol 4-reductase genes *TgDFR1* and *TgDFR2* in tulips[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2025, **51**(1): 118–127. DOI: [10.3785/j.issn.1008-9209.2024.12.022](https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9209.2024.12.022).
- [30] ZHENG Ying, LI Lihong, LIU Xinting, *et al.* The improvement of kinsenoside in wild-imitated cultivation *Anoectochilus roxburghii* associated with endophytic community[J]. *Industrial Crops and Products*, 2024, **208**: 117896. DOI: [10.1016/j.indcrop.2023.117896](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117896).
- [31] ZHENG Ying, LIN Chuyu, SUN Xutong, *et al.* Microbiota succession drives changes in active ingredients and alters the quality of *Anoectochilus roxburghii* during wild-imitated cultivation[J]. *Industrial Crops and Products*, 2025, **235**: 121726. DOI: [10.1016/j.indcrop.2025.121726](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121726).