

海拔对苍山地区野生滇龙胆品质的影响

胡明星^{1*}, 李海峰², 刘卫红^{1,3,4#}

¹大理大学农学与生物科学学院, 云南 大理

²大理大学药学院, 云南 大理

³云南省药用昆虫及蛛形类资源开发利用工程实验室, 云南 大理

⁴大理大学图书馆, 云南 大理

收稿日期: 2023年7月15日; 录用日期: 2023年9月20日; 发布日期: 2023年10月8日

摘要

目的: 本论文旨在研究海拔对苍山地区野生滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.)品质的影响。方法: 采用高效液相色谱(HPLC)法对滇龙胆根茎叶中龙胆苦苷的含量进行测定, 并将各部分龙胆苦苷含量与海拔高度进行相关性分析。结果: 苍山地区滇龙胆品质优良, 根茎叶三部分龙胆苦苷含量均超过《中国药典》规定, 根部龙胆苦苷含量在3.9%~8.2%之间。此外, 根部龙胆苦苷含量与海拔高度有显著线性相关性, 其线性拟合方程为 $y = -0.2752 + x * 1.35048E-4$ 。结论: 苍山地区野生滇龙胆品质优良; 在海拔2325.3~2599.7 m区间内, 滇龙胆品质随海拔上升而升高; 苍山地区海拔2400~2700 m范围内, 是潜在的优良人工滇龙胆种植区。

关键词

滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.), 龙胆苦苷, 适宜产区, 大理苍山, 海拔

Effects of Altitude on the Quality of Wild *Gentiana rigescens* Franch. in the Cangshan Mountain

Mingxing Hu^{1*}, Haifeng Li², Weihong Liu^{1,3,4#}

¹Department of Agriculture and Biological Sciences, Dali University, Dali Yunnan

²School of Pharmacy, Dali University, Dali Yunnan

³The Key Laboratory of Medical Insects and Spiders Resources for Development & Utilization at Yunnan Province, Dali University, Dali Yunnan

⁴The Libraries of Dali University, Dali Yunnan

Received: Jul. 15th, 2023; accepted: Sep. 20th, 2023; published: Oct. 8th, 2023

*第一作者。

#通讯作者。

Abstract

Objective: This paper aims to investigate the impact of altitude on the quality of wild *Gentiana rigescens* Franch. in the Cangshan Mountain. **Methods:** High-performance liquid chromatography (HPLC) was employed to determine the content of gentiopicroside in the roots, stems, and leaves of *G. rigescens*. The correlation between gentiopicroside content in different plant parts and altitude was analyzed. **Results:** The quality of *G. rigescens* in the Cangshan Mountain was excellent, with the gentiopicroside content in the roots, stems, and leaves exceeding the requirements of the *Chinese Pharmacopoeia*. The gentiopicroside content in the roots ranged from 3.9% to 8.2%. Furthermore, a significant linear correlation was observed between the gentiopicroside content in the roots and altitude, with the linear regression equation being $y = -0.2752 + x * 1.35048E-4$. **Conclusion:** The wild *G. rigescens* in the Cangshan Mountain exhibits excellent quality. Within the altitude range of 2325.3 to 2599.7 meters, the quality of *G. rigescens* increases with altitude. The altitude range of 2400 to 2700 meters in the Cangshan Mountain presents a potential area for high-quality cultivated *G. rigescens*.

Keywords

Gentiana rigescens Franch., Gentiopicroside, Suitable Production Area, Cangshan of Dali, Altitude

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.), 为龙胆科龙胆属多年生宿根性草本植物, 生于海拔 1100~3000 米的山坡草地灌丛、林下及山谷, 主要产于云南、四川和贵州[1], 是云南的道地药材。滇龙胆的主要指标性成分是龙胆苦苷, 现代药理学研究表明其具有保肝利胆、抗炎、抗病毒等作用[2]。

目前, 滇龙胆商品药材主要依靠野生资源供给, 由于野外生长条件差异, 导致滇龙胆品质参差不齐, 不利于规模化生产, 加之对野生资源的无节制开采, 使得一些产地野生滇龙胆资源接近枯竭。野生资源调查显示部分滇龙胆野生产区已经只有少量滇龙胆资源存在[3]。因此, 人工种植滇龙胆是满足市场需求和保护野生资源的有力手段。虽然目前已有部分人工种植滇龙胆能够满足《中国药典》[4]规定, 然而只局限在少数地区, 大多数原产区没有规模化产出, 并且人工种植滇龙胆在品质上比较野生滇龙胆依旧存在差距。

所以寻找优质产区、优良品种和潜在种植区就十分具有研究意义, 现有研究表明, 不同产地滇龙胆龙胆苦苷含量有明显区别, 最高含量(8.24%)与最低含量(2.11%)有近 4 倍的差距[3]。研究显示大理出产的野生滇龙胆品质很高, 是优良的滇龙胆产区, 沈涛等人认为大理山区是未来开展滇龙胆草野生资源保护及人工驯化栽培的理想地区[3] [5]。在高山地形中, 海拔是影响植被分布的重要因素。

一般来说, 海拔差异会导致温度、降水、光照和土壤等环境因子的变化, 造成植物生存环境的差异, 使其对不同环境产生适应性差异[6] [7] [8] [9]。随着海拔的上升, 气温下降、大气压下降、光照增强等, 对植物的形态和生理有重大影响[8]。因此, 明确海拔对于滇龙胆品质的影响, 对于寻找合适滇龙胆种植区具有重要意义。

为开展相关种植研究, 我们于 2022 年 10 月对大理苍山滇龙胆药物资源进行调研采集了不同海拔的 30 份药材样品拟测定龙胆苦苷的含量来分析和评价滇龙胆种质资源、药材品质情况为筛选优良种植材料

规划云南省滇龙胆种植区划提供基础数据。研究表明,龙胆中龙胆苦苷含量在 9~11 月间相对稳定,甚至不同生长年限的龙胆在此期间龙胆苦苷的含量都非常趋近[10],因此我们选择在 10 月份进行野外采样。

2. 材料与方法

2.1. 主要仪器

本研究所用的主要仪器包括 Agilent 1200 型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司), AE240 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司), SK5200H 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司)。

2.2. 主要药品与试剂

滇龙胆样品均由本课题组于 2022 年 10 月采自云南大理苍山,见表 1,每个地点随机采集生长年限大致相同且无病虫害的开花期植株 3~4 株,采集植株之间的株距不小于 10 m。采集的植株样品经大理大学药学院李海峰教授鉴定为龙胆属植物滇龙胆 *G. rigescens* Franch.。将采集的植株样品根茎叶分别在 40℃ 恒温箱中干燥至恒质量。龙胆苦苷对照品(批号 ZJ0701BA13,纯度 ≥ 98%)购自上海源叶生物科技有限公司;甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

Table 1. Sampling information table

表 1. 采样信息表

样品编号	经度	纬度	海拔(m)
C1	100.1506	25.6619	2325.3
C2	100.1407	25.6925	2384.1
C3	100.1478	25.6612	2454.7
C4	100.1315	25.6914	2575.2
C5	100.1387	25.6872	2593.6
C6	100.1413	25.6829	2599.7

2.3. 溶液的制备

2.3.1. 供试品溶液

将干燥后的各样点样品的根茎叶分别粉碎,过筛后作为样品。分别精密称取粉末 0.2 g 于 10 mL 容量瓶中,加入 4 mL 甲醇,超声(53 kHz, 40℃)处理 20 min,滤纸过滤,滤渣用 4 mL 甲醇按上述步骤重复处理 1 次;合并 2 次提取滤液至 10 mL 容量瓶中,冷却至室温,加甲醇定容,混匀。使用前用 0.22 μm 有机相微孔滤膜过滤,收集滤液,即得。

2.3.2. 混合对照品溶液

分别精密称取适量龙胆苦苷对照品,加甲醇溶解,制备成龙胆苦苷质量浓度为 0.2000 的溶液,经 0.22 μm 有机相微孔滤膜过滤,收集滤液,即得。

2.4. 滇龙胆根茎叶三部分的龙胆苦苷含量检测

龙胆苦苷含量的检测采用超高效液相色谱检测[11],HPLC 检测条件:色谱柱为 Eclipse XDB-C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以甲醇(A) - 水(B)为流动相进行梯度洗脱(0~15 min, 15%A→35%A; 15~40 min, 35%A→80%A; 40~60 min, 80%A→100%A);流速为 1.0 mL/min;柱温为 25℃;检测波长为 274 nm (龙胆苦苷)、243 nm (獐牙菜苦苷、獐牙菜苷及苦龙胆酯苷);进样量为 5 μL。

2.5. 数据分析处理

使用 SPSS 27 进行数据处理和相关性分析；使用 origin 2021 进行绘图和线性拟合。

3. 结果

3.1. 根茎叶三部分的龙胆苦苷含量表

从表 2 中可以看出，在海拔 2325.3~2599.7 m 区间内，海拔 2599.7 m 滇龙胆根部龙胆苦苷含量最高，为 8.2%；海拔 2325.3 m 的滇龙胆根部龙胆苦苷含量最低，为 3.9%。海拔 2454.7 m 的带龙胆茎部龙胆苦苷含量最高，为 3.3%；海拔 2575.2 m 和 2575.2 m 的滇龙胆茎部龙胆苦苷含量最低，为 1.4%。对于滇龙胆叶部，则是海拔 2325.3 m 的龙胆苦苷含量为高，为 3.8%；海拔 2575.2 m 的龙胆苦苷含量最低，为 2.1%。在图 1 中，各样点的滇龙胆根茎叶三部分的龙胆苦苷含量均符合根 > 叶 > 茎。C1~C6，根部的龙胆苦苷含量具有上升趋势。

Table 2. Gentiopicroside content in *Gentiana rigescens* table

表 2. 滇龙胆龙胆苦苷含量表

样品	海拔(m)	龙胆苦苷含量(%)		
		根部	茎部	叶部
C1	2325.3	3.9	2.3	3.8
C2	2384.1	4.3	2.3	2.7
C3	2454.7	6.2	3.3	3.4
C4	2575.2	6.7	1.4	2.1
C5	2593.6	7.2	2.0	2.5
C6	2575.2	8.2	1.4	2.6

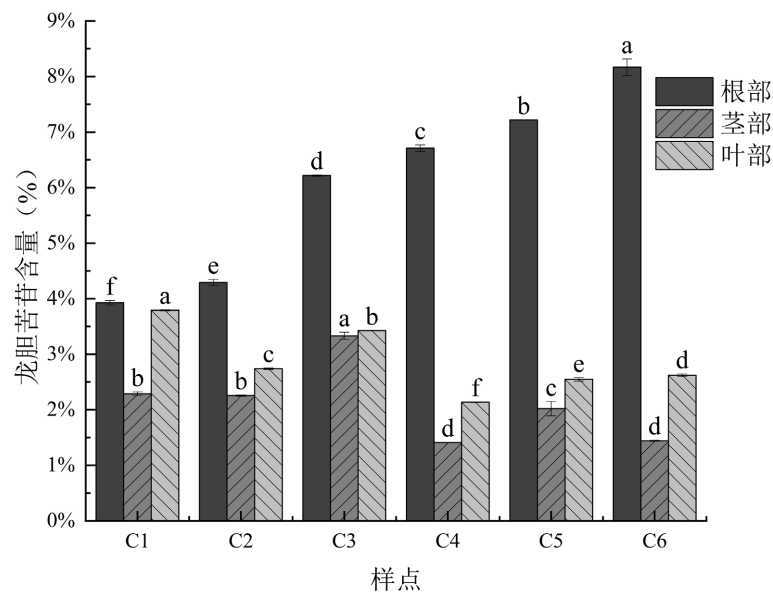


Figure 1. Bar chart of gentiopicroside content in *Gentiana rigescens*

图 1. 滇龙胆龙胆苦苷含量柱状图

3.2. 海拔高度对滇龙胆龙胆苦苷含量的影响

使用 SPSS 27 计算 Pearson 相关系数, 根部龙胆苦苷含量与海拔高度的相关系数 $|r| = 0.955$, $p = 0.03 < 0.05$, 具有显著相关性; 茎部和叶部没有相关性。使用 origin2021 进行散点图绘制和线性拟合。图 2(a) 结果显示, 在海拔 2325.3~2599.7 m 区间内, 滇龙胆根部龙胆苦苷含量与海拔高度呈现高度正相关, 通过线性拟合得到拟合公式 $y = -0.2752 + x * 1.35048E-4$, $R^2 = 0.91284$, 可以看出根部龙胆苦苷含量与海拔高度存在明显的线性关系; 图 2(b), 图 2(c) 结果显示, 茎部和叶部的龙胆含量和海拔高度有一定的负相关, 但是没有明显的线性关系。

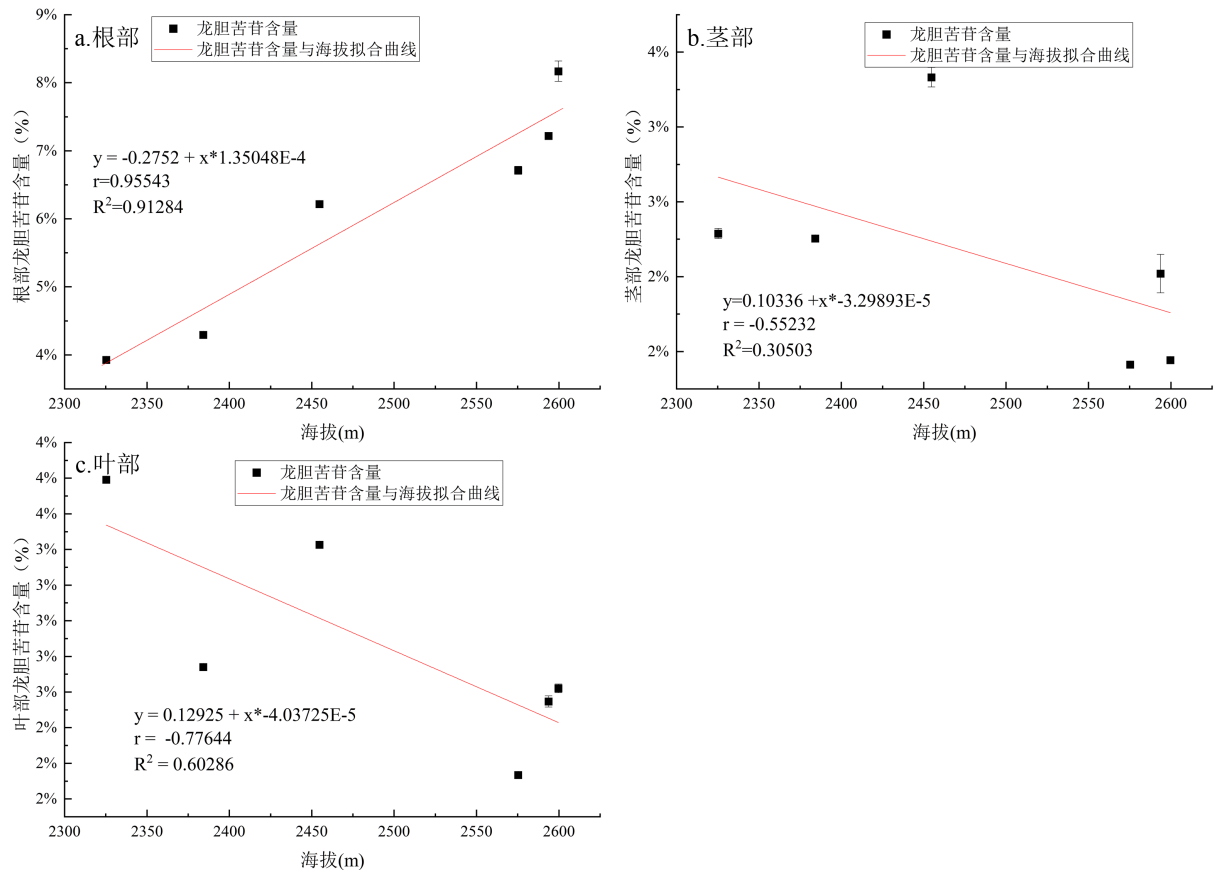


Figure 2. Linear regression of gentiopicoside content with altitude

图 2. 龙胆苦苷含量与海拔线性拟合图

4. 讨论

滇龙胆是云南的道地药材, 具有广泛的药理特性, 特别是在保肝、利胆等功效上得到了大量临床运用, 具有很高的药用和经济价值, 目前在市场上供不应求。然而由于大量无序开发和长期掠夺式采摘, 使得野生滇龙胆资源日渐枯竭, 李智敏等人的资源调查中发现, 丽江、大理等地的滇龙胆资源破坏严重, 几乎没有规模产量[3]。因此发展人工种植滇龙胆工作由为重要, 其中评估优良种源和寻找合适产区更是重中之重。

4.1. 苍山地区野生滇龙胆品质评估

通过对本研究采自大理苍山的野生滇龙胆进行龙胆苦苷含量的测定结果来看, 所有样本的龙胆苦苷

含量均高于《中国药典》[12]中规定的 1%，根部龙胆苦苷含量在 3.9%~8.2%之间，是药典规定的 4~8 倍，证明大理苍山产地野生滇龙胆具有优良品质。

4.2. 海拔高度对于滇龙胆龙胆苦苷含量的影响

通过对根茎叶三部分的龙胆苦苷含量与海拔高度进行线性拟合分析发现，在海拔 2325.3~2599.7 m 区间内，滇龙胆根部龙胆苦苷含量随海拔高度的上升而增加。研究表明海拔对植物的叶片气孔、光合作用强度以及蒸腾作用有很大的影响[13]。海拔的变化会引起多因素的变化，如光照、气温、水分及土壤的变化。因此海拔对植物的影响是一个复杂的多因素共同作用的系统。海拔对植物的影响是具有整体性，然而在本研究中，只有根部的龙胆苦苷含量与海拔高度具有线性相关，茎部和叶部均不具有线性相关性，说明该影响很可能是通过土壤变化来进行影响的。根据杨雁等人的研究[14]，土壤有机质在海拔 2200~2700 m 是逐渐增加的，土壤有机质是植物生长的重要养分来源，能够改善土壤结构，促进微生物活动。这可能是海拔影响滇龙胆根部龙胆苦苷含量的原因。

4.3. 大理苍山适宜种植滇龙胆的海拔区间

沈涛等人[5]利用国家标本资源共享平台提供的物种分布数据，结合野外实地调查和 MaxEnt 模型对滇龙胆草适宜分布区进行模拟和验证，MaxEnt 模型计算显示，临沧、保山、大理、蒙自等地的山区和半山区均有较大面积的适生区。结合主要活性成分的定量分析认为，上述地区是未来开展滇龙胆草野生资源保护及人工驯化栽培的理想地区[15] [16]。

本研究显示在大理苍山地区，随海拔升高滇龙胆根部龙胆苦苷含量上升，但是高海拔会导致植物生物量下降，不利于提高滇龙胆产量。根据杨雁等人的研究，滇龙胆在海拔 2400 m 左右其地下部干重/地上部干重比最大，在海拔 2700 m 左右具有最大的地下部生物量[14]。结合本研究的结果，在海拔 2325.3~2599.7 m 区间内，滇龙胆的品质是逐渐上升的，因此海拔 2400~2700 m 范围内，滇龙胆是品质和产量均有保障。

5. 结论

本研究通过采集大理苍山一定海拔范围内野生滇龙胆，测定其龙胆苦苷的含量，来评估大理苍野生滇龙胆的品质，结果显示苍山野生滇龙胆品质均高于《中国药典》规定含量，主要药用部位根部龙胆苦苷含量高出 4~8 倍，具有非常优良的品质。

通过对龙胆苦苷含量和海拔高度的相关性分析来明确海拔高度对于滇龙胆品质的影响。研究结果显示在海拔 2325.3~2599.7 m 区间内，滇龙胆的品质随着海拔上升而上升，其原因可能是海拔影响土壤成分和微生物结构，从而间接影响滇龙胆品质。

综合龙胆苦苷含量、滇龙胆生物量及土壤状况，我们认为大理苍山是非常具有价值的潜在滇龙胆人工种植区，且其适宜的海拔高度为 2400~2700 m。

基金项目

该研究得到中国国家自然科学基金(项目编号 31760158, 81960712)、中国西南药用昆虫与蛛形资源协同创新中心开放课题基金(项目编号 CIC201805)以及大理大学创新团队(项目编号 ZKLX2019213)的支持。

参考文献

- [1] 吴昕怡, 李智敏, 潘俊, 等. 基于转录组分析热刺激下滇龙胆根龙胆苦苷生物合成途径[J/OL]. 分子植物育种, 2022: 1-12. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20221010.1535.014.html>, 2023-07-01.

- [2] 褚博文, 张霁, 李智敏, 王元忠. 滇龙胆化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(13): 213-22.
- [3] 李智敏, 赵磊, 白艳婷, 等. 不同产地滇龙胆中龙胆苦苷的含量测定[J]. 云南中医学院学报, 2008, 31(6): 10-11+14.
- [4] 朱卫萍, 赵磊, 张国华, 饶高雄. 栽培滇龙胆的化学成分研究[J]. 云南中医学院学报, 2010, 33(5): 8-12+16.
- [5] 沈涛, 虞泓, 王元忠. 滇龙胆草野生资源的地理分布与生物气候特征[J]. 应用生态学报, 2019, 30(7): 2291-300.
- [6] Dorji, T., Moe, S.R., Klein, J.A. and Totland, Ø. (2014) Plant Species Richness, Evenness, and Composition along Environmental Gradients in an Alpine Meadow Grazing Ecosystem in Central Tibet, China. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **46**, 308-326. <https://doi.org/10.1657/1938-4246-46.2.308>
- [7] 德科加, 张德罡, 王伟, 等. 不同海拔下高寒草甸土壤养分分异趋势及其与地上植物量间的相关性研究[J]. 草地学报, 2013, 21(1): 25-29.
- [8] 朱润军, 杨巧, 李仕杰, 杨畅宇, 程希平. 植物表型可塑性对环境因子的响应研究进展[J]. 西南林业大学学报, 2021, 41(1): 183-187.
- [9] Dostál, P., Fischer, M. and Prati, D. (2016) Phenotypic Plasticity Is a Negative, Though Weak, Predictor of the Commonness of 105 Grassland Species. *Global Ecology and Biogeography*, **25**, 464-474. <https://doi.org/10.1111/geb.12429>
- [10] 赵建军, 王汉卿, 赵云生, 等. 六盘山人工栽培秦艽化学成分含量累积动态分析[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3739-41.
- [11] 李睿, 张莹莹, 刘卫红, 等. 相同产地3种龙胆属植物根及根茎中化学成分的差异分析[J]. 中国药房, 2023, 34(3): 303-308.
- [12] 国家药典委员会. 中国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [13] 曾姜意, 朱强根, 刘慧, 等. 海拔和光温水对植物叶片生理影响研究进展[J]. 绿色科技, 2021, 23(18): 36-40.
- [14] 杨雁, 金航, 王家金, 等. 大理苍山不同海拔梯度和土壤对野生滇龙胆生长及其成分的影响[J]. 西南农业学报, 2014, 27(4): 1601-1606.
- [15] Shen, T., Zhang, J., Zhao, Y.L., et al. (2015) Content of Main Bioactive Constituents and Quality Evaluation for Wild Grown and Cultivated *Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, **35**, 979-985.
- [16] 王琴琴, 沈涛, 左智天, 黄衡宇, 王元忠. 基于数据融合和多指标定量对滇龙胆产地鉴别和质量评价[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(6): 1162-1168. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20180105.016>