

不同种植模式对滇龙胆草总裂环烯醚萜苷含量的影响

李远菊^{1,2}, 沈涛³, 张霁¹, 赵艳丽¹, 王元忠^{1,①}

(1. 云南省农业科学院药用植物研究所, 云南 昆明 650200; 2. 云南中医学院中药学院, 云南 昆明 650500;
3. 玉溪师范学院资源环境学院, 云南 玉溪 653100)

Effect of different planting patterns on total secoiridoid glycoside content in *Gentiana rigescens* LI Yuanju^{1,2}, SHEN Tao³, ZHANG Ji¹, ZHAO Yanli¹, WANG Yuanzhong^{1,①} (1. Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650200, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China; 3. College of Resources and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2014, **23**(3): 111-113

Abstract: Effect of different planting patterns on total secoiridoid glycoside content in different parts of *Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl. was researched. The results show that different planting patterns have significant or extremely significant effects on total secoiridoid glycoside content in root, stem and leaf of *G. rigescens*. Total secoiridoid glycoside content in root is the highest under planting pattern of *G. rigescens*-*Alnus nepalensis* D. Don and is the lowest under planting pattern of *G. rigescens*-*Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne, that in stem is the highest under single planting pattern of *G. rigescens* and is the lowest under planting pattern of *G. rigescens*-*Juglans regia* Linn., and that in leaf is the highest under planting pattern of *G. rigescens*-*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. and is the lowest under single planting pattern of *G. rigescens*.

关键词: 滇龙胆草; 复合种植; 总裂环烯醚萜苷含量

Key words: *Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl.; complex planting; total secoiridoid glycoside content

中图分类号: Q946.83; Q949.776.4; R282.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2014)03-0111-03
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2014.03.16

滇龙胆草(*Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl.)为龙胆科(Gentianaceae)龙胆属(*Gentiana* Linn.)多年生草本植物,主要分布于云南、四川、贵州、湖南和广西等地,生长于山坡、草地、灌丛、林下及山谷中^[1]。该种为传统中药龙胆的基源植物,其干燥根及根茎均可入药,具有清热燥湿和泻肝胆火的功效^[2]。因其资源需求量逐年增加,滇龙胆草的人工种植越来越普遍,并出现了多种种植模式^[3]。目前滇龙胆草主要种植模式有单一种植和林药复合种植,常见的有滇龙胆草与茶树[*Camellia sinensis* (Linn.) Kuntze]、桉树(*Eucalyptus robusta* Smith)、木瓜[*Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne]和旱冬瓜(*Alnus nepalensis* D. Don)的复合种植模式^[4]。与传统林业系统相比,林药复合系统具有良好的生态效益、社会效益和经济效益^[5]。周幸^[6]的研究结果表明,在太行山山地林药复合种植模式中,分布于土壤表层的药用植物浅根系对表层土有加筋固着作用,可减少水土流失。Sujatha等^[7]认为,在槟榔(*Areca catechu* Linn.)园间作芳香药用植物有助于提高其产量并增加单位面

积收入。目前有关林药复合种植的研究主要集中于其生态效益和经济效益,对复合种植模式下药用植物有效成分变化的研究尚不多见^[8-9]。

裂环烯醚萜苷是龙胆科药用植物的特征性成分,主要有龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷等^[10-11],是龙胆药材的主要药效成分^[12-14]。作者以滇龙胆草中总裂环烯醚萜苷含量为评价指标,分析不同种植模式对其不同部位总裂环烯醚萜苷含量的影响,为滇龙胆草复合种植模式的实施提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料、仪器和试剂

1.1.1 材料 供试样品于2012年10月采集自云南临沧滇龙胆栽培样地,所有样品均栽培2 a。共设置8种植植模式,包括单一种植以及滇龙胆草与茶树、桉树、木瓜、旱冬瓜、核桃(*Juglans regia* Linn.)、杉木[*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.)

收稿日期: 2013-10-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81260608); 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI13B02-04); 云南省技术创新人才培养项目(2010CI068); 云南省科技计划项目(2012AE002); 云南省自然科学基金资助项目(2013FZ150; 2013FZ151); 2012年度国家中药材生产扶持项目(41); 国家农业部公益性行业科研专项(201303117)

作者简介: 李远菊(1989—),女,云南丽江人,硕士研究生,主要从事中药资源开发与利用研究。

①通信作者 E-mail: boletus@126.com

Hook.]及木果柯[*Lithocarpus xylocarpus* (Kurz) Markgraf]复合种植。每种模式样地面积 48 m², 样地年平均气温 18.5 °C, 年平均降水量 1 158 mm。不同种植模式按五点取样法进行取样, 并由云南省农业科学院药用植物研究所张金渝研究员鉴定; 取样后每个样地随机选取 10 株, 每株分成根、茎和叶片 3 部分, 分别置于 50 °C 条件下干燥至恒质量, 粉碎后过 100 目筛, 备用。

1.1.2 仪器与试剂 UV-2550 型紫外分光光度计(日本岛津公司), SY3200-T 型超声波清洗器(上海声源超声波仪器设备有限公司), AR1140 万分之一分析天平(美国奥豪斯公司), FW-100 高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器厂), UPT-I-10L 优普超纯水机(成都优越科技有限公司)。龙胆苦苷对照品(批号 110770-201314, 纯度 96.9%) 购自中国药品生物制品检定所; 乙醇为分析醇, 蒸馏水自制。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液及样品溶液制备 称取龙胆苦苷对照品 3.0 mg, 用体积分数 70% 乙醇配制成 60 μg · mL⁻¹ 对照品溶液。分别称取各种种植模式下滇龙胆草不同部位样品粉末 25.0 mg, 加入体积分数 70% 乙醇 10 mL, 超声(功率 150 W) 提取 40 min, 过滤; 取滤液 5.0 mL, 用体积分数 70% 乙醇定容至 50 mL, 即为质量浓度 250 μg · mL⁻¹ 的供试样品溶液。

1.2.2 测定波长的选择 分别取上述龙胆苦苷对照品溶液和样品溶液, 以体积分数 70% 乙醇为空白, 在波长 190 ~ 400 nm 范围内扫描, 两者均在波长 270 nm 处有最大吸收峰, 故选择 270 nm 为检测波长。

1.2.3 对照品线性关系考察 分别取对照品溶液 1.0、3.0、4.0、5.0 和 8.0 mL, 分别用体积分数 70% 乙醇定容至 10 mL, 以体积分数 70% 乙醇为空白, 于波长 270 nm 处测定吸光度值; 以吸光度值(A)为纵坐标、对照品质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线: $A=0.023\ 08C-0.005\ 81$ ($r=0.999\ 7$), 龙胆苦苷在质量浓度 6.0 ~ 48.0 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

1.2.4 样品溶液测定 取上述各样品溶液, 以体积分数 70% 乙醇为空白, 于波长 270 nm 处测定吸光度值, 平行测定 3 次, 根据标准曲线计算样品中总裂环烯醚萜苷含量。

1.2.5 方法学考察 精密吸取质量浓度 24 μg · mL⁻¹ 的对照品溶液, 测定波长 270 nm 处的吸光度值, 重复测定 5 次, RSD 为 0.15%, 结果表明该方法精密性良好。

精密吸取同一样品溶液, 分别在 0、1、2、3 和 4 h 测定波长 270 nm 处的吸光度值, 总裂环烯醚萜苷含量分别为 122.62、120.58、122.56、126.32 和 125.14 μg · mg⁻¹, 平均含量为 123.44 μg · mg⁻¹, RSD 为 1.85%, 结果表明该样品溶液稳定性良好。

分别称取同一批样品粉末 6 份, 按上述方法制备样品溶液并测定吸光度值, RSD 为 1.97%, 结果表明该方法重复性良好。

称取总裂环烯醚萜苷含量为 119.856 μg · mg⁻¹ 的样品粉

末 20.0 mg, 称取 6 份, 按上述方法制备样品溶液; 然后分别加入质量浓度 97.71 μg · mL⁻¹ 龙胆苦苷对照品溶液 1.0、1.0、2.0、2.0、3.0 和 3.0 mL, 用体积分数 70% 乙醇定容至 25 mL, 于波长 270 nm 处测定吸光度值并计算总裂环烯醚萜苷含量; 样品中龙胆苦苷的平均回收率达到 98.83%, RSD 为 3.39%, 表明该方法的回收率较高。

1.3 数据统计和分析

采用 EXCEL 2003 和 SPSS 11.5 统计分析软件对实验数据进行方差分析和多重比较分析。

2 结果和分析

不同种植模式下滇龙胆草不同部位总裂环烯醚萜苷含量见表 1。

由表 1 可知: 滇龙胆草根中的总裂环烯醚萜苷含量在滇龙胆草-木瓜种植模式下最低(82.03 μg · mg⁻¹), 而在滇龙胆草-旱冬瓜和滇龙胆草-核桃种植模式下较高(分别为 105.52 和 102.88 μg · mg⁻¹), 前者与后 2 种复合种植模式间差异显著($P<0.05$); 在 7 种复合种植模式中, 除滇龙胆草-木瓜种植模式外, 在其他复合种植模式下根中总裂环烯醚萜苷含量均高于滇龙胆草单一种植模式。

茎中的总裂环烯醚萜苷含量在滇龙胆草单一种植模式下最高(80.46 μg · mg⁻¹), 在滇龙胆草-旱冬瓜种植模式下也较高(73.66 μg · mg⁻¹), 而在滇龙胆草-核桃种植模式下则最低

表 1 不同种植模式下滇龙胆草不同部位总裂环烯醚萜苷含量的比较 ($\bar{X}\pm SD, n=10$)¹⁾

Table 1 Comparison of total secoiridoid glycoside content in different parts of *Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl. under different planting patterns ($\bar{X}\pm SD, n=10$)¹⁾

模式 ²⁾ Pattern ²⁾	不同部位总裂环烯醚萜苷含量/μg · mg ⁻¹ Total secoiridoid glycoside content in different parts		
	根 Root	茎 Stem	叶片 Leaf
SP	86.09±16.21ab	80.46±8.43b	66.75±6.77a
GR-CS	91.03±12.37ab	63.31±7.64a	70.19±25.83a
GR-AN	105.52±17.96b	73.66±12.68ab	74.08±10.42a
GR-JR	102.88±14.40b	60.53±7.79a	72.04±12.26a
GR-ER	90.12±15.05ab	64.04±13.86a	96.61±12.30b
GR-CL	93.43±11.90ab	65.68±8.26a	109.26±15.22b
GR-CHS	82.03±14.11a	66.94±12.37a	104.80±17.27b
GR-LX	92.67±17.44ab	72.90±7.84ab	81.83±10.25a
平均值 Average	92.97±7.88	68.44±6.65	84.45±16.74

1) 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

2) SP: 滇龙胆草单一种植 Single planting of *Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl.; GR: 滇龙胆草 *G. rigescens*; CS: 茶树 *Camellia sinensis* (Linn.) Kuntze; AN: 旱冬瓜 *Alnus nepalensis* D. Don; JR: 核桃 *Juglans regia* Linn.; ER: 桉树 *Eucalyptus robusta* Smith; CL: 杉木 *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.; CHS: 木瓜 *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne; LX: 木果柯 *Lithocarpus xylocarpus* (Kurz) Markgraf.

($60.53 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$);在7种复合种植模式中,除滇龙胆草-旱冬瓜、滇龙胆草-木果柯种植模式外,在其余种植模式下茎中总裂环烯醚萜苷含量均显著低于滇龙胆草单一种植。

叶片中总裂环烯醚萜苷含量在滇龙胆草-杉木种植模式下最高($109.26 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$),在滇龙胆草单一种植模式最低(仅为 $66.75 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$);在7种复合种植模式中,在滇龙胆草-杉木、滇龙胆草-木瓜、滇龙胆草-桉树种植模式下叶片中总裂环烯醚萜苷含量显著高于滇龙胆草单一种植模式,而在其他复合种植模式下叶片中总裂环烯醚萜苷含量与滇龙胆草单一种植模式差异不显著。

由表1还可知:不同种植模式下滇龙胆草根、叶片和茎中总裂环烯醚萜苷平均含量依次降低,分别为 92.97 、 84.45 和 $68.44 \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。方差分析结果表明:种植模式对滇龙胆草根中总裂环烯醚萜苷含量有显著影响,对茎和叶片中总裂环烯醚萜苷含量有极显著影响($P < 0.01$)。

3 讨论和结论

药用植物药效成分的产生和积累受生态环境因素影响^[15]。权秋梅等^[16]的研究结果表明:不同生境中柔毛淫羊藿(*Epimedium pubescens* Maxim.)有效成分有差异,在光照强度较高的生境中其总黄酮和淫羊藿苷含量高于光照强度较低的生境。曹建华等^[17]认为:适宜的间作复合生态系统可以改善生态环境小气候。因而,推测不同种植模式下滇龙胆草体内总裂环烯醚萜苷含量变化可能与其生长的小环境有关。

滇龙胆草的主要药用部位为根部,在不同种植模式下,除滇龙胆草-木瓜种植模式外,在其余复合种植模式下滇龙胆草根中总裂环烯醚萜苷含量均高于单一种植模式,其中在滇龙胆草-旱冬瓜种植模式下滇龙胆草根中总裂环烯醚萜苷含量最高,但由于桉树和旱冬瓜叶片水提取物对滇龙胆草种子萌发有显著抑制作用^[4],因此,滇龙胆草与茶树、核桃、杉木及木果柯复合种植较为适宜。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第六十二卷[M]. 北京:科学出版社,1988:100.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:89.
- [3] 赵振玲,张金渝,金航,等. 云南栽培滇龙胆病害种类及生态治理[J]. 中药材,2012,35(1):6-11.
- [4] ZHANG J, WANG Y Z, YANG S B, et al. Effects of tree species on seed germination and seedlings growth of Chinese medicinal herb

Gentiana rigescens[J]. Allelopathy Journal, 2012, 29: 325-332.

- [5] LU J B. Energy balance and economic benefits of two agroforestry systems in northern and southern China [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2006, 116: 255-262.
- [6] 周幸. 太行山山地林、药复合种植模式及技术探索[J]. 中国林副特产, 2008(4): 43-45.
- [7] SUJATHA S, BHAT R, KANNAN C, et al. Impact of intercropping of medicinal and aromatic plants with organic farming approach on resource use efficiency in arecanut (*Areca catechu* L.) plantation in India[J]. Industrial Crops and Products, 2011, 33: 78-83.
- [8] 王文杰,李文馨,许慧男,等. 不同生境白屈菜(*Chelidonium majus*)生活史型特征及其与不同器官单宁、黄酮、生物碱含量的关系[J]. 生态学报, 2008, 28(11): 5228-5237.
- [9] 齐海涛,王有为,朱强,等. 不同栽培模式下黄连质量评价[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(7): 570-572.
- [10] WANG Y M, XU M, WANG D, et al. Review on "Long-Dan", one of the traditional Chinese medicinal herbs recorded in Chinese pharmacopoeia [J]. Natural Products and Bioprospecting, 2012, 2: 1-10.
- [11] 曹晓燕,王政军,王喆. 4种秦艽属植物不同器官中4种环烯醚萜苷成分含量的比较分析[J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(1): 58-63.
- [12] WANG Y M, XU M, WANG D, et al. Anti-inflammatory compounds of "Qin-Jiao", the roots of *Gentiana dahurica* (Gentianaceae) [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 147: 341-348.
- [13] NASTASIJEVIĆ B, LAZAREVIĆ-PAŠTI T, DIMITRIJEVIĆ-BRANKOVIĆ, et al. Inhibition of myeloperoxidase and antioxidative activity of *Gentiana lutea* extracts [J]. Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis, 2012, 66: 191-196.
- [14] DINDA B, CHOWDHURY D R, MOHANTA B C. Naturally occurring iridoids, secoiridoids and their bioactivity. An updated review, part 3 [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2009, 57: 765-796.
- [15] 黄璐琦,高伟,周洁,等. 系统生物学方法在药用植物次生代谢产物研究中的应用[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(1): 8-12.
- [16] 权秋梅,高泽梅,黎云祥. 不同生境中柔毛淫羊藿形态特征及其有效成分差异分析[J]. 广西植物, 2012, 32(3): 350-354.
- [17] 曹建华,梁玉斯,蒋菊生. 胶-农复合生态系统对橡胶园小环境的影响[J]. 热带农业科学, 2008, 28(1): 1-8, 14.

(责任编辑:张明霞)