

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2016.02.016

海拔对暗紫贝母生长及总生物碱含量的影响

张利¹, 朱欣伟¹, 黄泉¹, 康英¹, 任君芳¹, 杨华¹, 陈俊², 李强³

(1. 阿坝州林业科学技术研究所, 四川 汶川 623000; 2. 阿坝州马尔康林业局, 四川 马尔康 624000; 3. 四川省农业科学院, 四川 成都 610064)

摘要:为研究不同海拔梯度对暗紫贝母幼苗生长及总生物碱含量的影响,以株高为生长指标,采用酸性染料比色法,比较其总生物碱含量变化。结果表明:在一定海拔范围内,高海拔和低海拔段暗紫贝母幼苗苗高均显著低于中海拔段;5月~6月份幼苗苗高的生长量显著高于6月~7月份幼苗苗高的生长量;总生物碱含量则随海拔升高而增加。研究结果表明海拔梯度会对暗紫贝母生长及总生物碱含量产生一定程度的影响,这可能是由无雪期的长度、气温等环境因子决定的。

关键词:暗紫贝母;海拔梯度;生物碱

中图分类号:S718 文献标识码:A 文章编号:1003-5508(2016)02-0080-04

Variation of Seedling Growth and the Content of Total Alkaloid of *Fritillaria unibracteata* Along Altitudinal Gradients

ZHANG Li¹ ZHU Xin-wei¹ HUANG Qian¹ KANG Ying¹ REN Jin-fang¹
YANG Hua¹ CHEN Jing² LI Qiang³

(1. Aba Autonomous Prefecture Forestry Institute of Science and Technology, Wenchuan 623000, China;
2. Aba barkam Forestry Bureau, Maerkang 624000, China;
3. Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610064, China)

Abstract: To provide theoretical support for artificial cultivation of *Fritillaria unibracteata* and to lay a foundation for protection of its wild resource, studies were made of the effects of altitudinal variation on seedling growth and the content of total alkaloid in this paper. The content of total alkaloid in *Fritillaria unibracteata* was measured by using acid dye colorimetry method. The seedling-height also was measured to evaluate its growth condition. The results showed that within a certain range of altitude, the height of *Fritillaria unibracteata* seedlings at the high and lower elevations were significantly lower than that at the medium elevation; The growth of seedling height was significantly faster from May to June than that from June to July. In conclusion, altitude exerted a strong influence on seedling growth and total alkaloid content of *Fritillaria unibracteata*, which might be mainly affected by the length of snow-free period, air temperature and soil water content.

Key words: *Fritillaria unibracteata*, Elevation gradient, Alkaloids

暗紫贝母 (*Fritillaria unibracteata*) 为百合科贝母属植物,主要分布于川西北地区,是青藏高原东部

收稿日期:2015-10-20

基金项目:四川省科技支撑项目;阿坝州天然林林下高效种、养殖关键技术研究与应用(2014FZ0004)。

作者简介:张利(1983-),男,主要从事生态建设及林下种植研究,E-mail: 823764732@qq.com。

高山草甸植被的代表性植物,海拔一般为3 200 m ~ 4 500 m^[1],分布范围十分有限^[2,3],以地下干燥鳞茎入药,为中药材川贝母的主要来源之一,是中国特有的中药材。由于药材市场需求旺盛,暗紫贝母被长期的过度采挖,其野生资源量日渐枯竭,加强野生资源调查和研究就显得至关重要^[4]。以前对于暗紫贝母的研究主要集中于组织培养技术和鳞茎化学成分提取工艺和分析方面^[5],以及从空间尺度上研究野生生境中不同海拔梯度上暗紫贝母生物量的分配模式^[4]和暗紫贝母群落的植物种类组成与区系分布^[5]。而对暗紫贝母不同生境条件下个体生长特性及生物碱含量的比较研究尚未见报道。本文以生态因子中的海拔梯度作为研究对象,研究其对暗紫贝母幼苗生长及总生物碱含量的影响,旨在揭示高寒地区海拔对暗紫贝母生长的影响,为暗紫贝母的引种栽培和生产提供参考,并为其野生资源的保护奠定基础。

1 材料种植区概况

研究区位于青藏高原东部的四川省马尔康县卓克基到梦笔山(210省道),卓克基距县城8 km,海拔2 700 m。梦笔山呈东西走向,山势平缓,最低山口海拔3 900 m,最高峰海拔4 470 m。该区域属低

纬度、高海拔的特殊地理与高山峡谷立体气候,冬干夏湿、雨热同季、日照充足、昼夜温差大。年均温为年均气温8℃~9℃,年降水量753 mm,下雨多发生在夏季,年均日照2 000 h以上,绝对无霜期120 d。土壤类型以山地暗棕壤为主,呈酸性。

2 材料与方法

2.1 试验材料

供试暗紫贝母种子来源于康定恩威高原药材野生抚育基地有限责任公司;精密电子天平(型号:PB303-E);紫外可见分光光度计(上海光谱仪器,SP-756PC型)。

2.2 播种样方设置

从卓克基到梦笔山,取6个海拔梯度(3 948 m、3 662 m、3 618 m、3 391 m、3 241 m、3 142 m),分别用A、B、C、D、E、F表示,其基本情况如表1所示,6个海拔梯度分3个海拔部位分别为高海拔部位(A),中海拔部位(B和C),低海拔部位(D、E和F)。每个海拔梯度设置3个1 m×2 m的样方,每个样方播种3行,采用条播方式播种,每行60粒种子均匀播种(参照暗紫贝母药材规范化栽培技术规范(GB-T28658-2012))。播种时间4月上旬。

表1 暗紫贝母试验点基本情况

Tab. 1 Basic information of *Fritillaria unibracteata* test sites

小地名	海拔(m)	经纬度	坡向	坡度	主要物种
26 公桩 +600 m	3 948	N31°42'44.6",E102°17'53.6"	东偏南 30°	35°~40°	云杉、冷杉、杜鹃、柏木
道班	3 662	N31°43'36.8",E102°16'43.5"	东偏南 55°	35°~40°	云杉、青冈、高山柏、高山柳、三颗针
道班	3 618	N31°43'36.8",E102°16'43.5"	东偏南 22°	35°~40°	云杉、青冈、高山柏、高山柳、三颗针
弯道处	3 391	N31°44'24.3",E102°16'06.1"	南偏西 67°	40°	箭竹、云杉、青冈、高山栎、红毛五加
204 林场管护站后山	3 241	N31°45'02.4",E102°16'07.8"	南偏西 80°	40°~45°	云杉、青冈、高山柳、三颗针、杜鹃
移动基站	3 142	N31°48'24.3",E102°16'41.3"	南偏东 10°	20°~25°	高山栎、青冈、蔷薇、杜鹃、花楸、红桦

2.3 测定方法

2.3.1 幼苗生长指标的测定

分别于2015年5月、6月、7月上旬测量每个调查样方中的暗紫贝母植株的高度。

2.3.2 暗紫贝母中总生物碱的测定

2015年7月下旬在每个海拔部位的每个调查样方中选取生长相对一致的暗紫贝母植株3株,整株采挖,挖出的鳞茎洗净,分样方装纸袋,带回实验室在65℃下烘48 h(直至恒重),用精密电子天平(型号:PB303-E)称量每粒鳞茎的干重,然后粉碎,过80目筛,备用。对照品贝母素甲购于中国药品生物制品检定所。

(1) 对照品溶液的制备。

精密称取贝母素甲对照品2 mg,置于10 ml容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,其浓度为0.2 mg·ml⁻¹。

(2) 供试品溶液的制备

精密称取暗紫贝母细粉约2.0 g,置100 ml锥形瓶中,加浓氨试液4 ml浸润1 h,精密加入三氯甲烷:甲醇(4:1)的混合溶液40 ml,混匀,置80℃水浴加热回流4 h,放冷,滤过,用三氯甲烷-甲醇(4:1)混合溶液洗涤2次~3次圆底烧瓶,洗涤液与样品液一起过滤后,置于干燥至恒重的蒸发皿中,在60℃水浴上蒸干后,于烘箱中60℃干燥3 h,最后残

渣加氯仿分次溶解,定容于 25 ml 的容量瓶中。测试前摇匀,过 0.22 μ m 滤膜,待测。

(3) 标准曲线的绘制

精密吸取对照品溶液 0.4 ml, 0.6 ml, 0.8 ml, 1.0 ml, 1.4 ml 分别置于 25 mL 容量瓶中,加入 pH 5.0 的缓冲液 5.0 ml 及 0.05% 溴甲酚绿溶液 2.0 ml,用氯仿定容,剧烈振摇,移入 50 ml 分液漏斗中,静置 30 min,分取氯仿层置于预先放有已精密称定的 0.20 g 无水硫酸钠的 100 ml 具塞的锥形瓶中,密塞摇匀,随行空白对照,在 415 nm 处测定吸光度值^[6]。用最小二乘法以吸光度值为纵坐标,以对照品量为横坐标横坐标,绘制标准曲线。

(4) 样品含量测定

精密吸取供试品溶液 1 ml 置于 25 ml 容量瓶中,加入 pH5.0 的缓冲液 5.0 ml 及 0.05% 溴甲酚绿溶液 2.0 ml,氯仿定容,密塞,剧烈振摇,移入分液漏斗中,静置 30 min,分取氯仿层于装有 0.20 g 无水硫酸钠的 100 ml 具塞的锥形瓶中,随行空白对照,在 415 nm 处测定吸光度值^[6],计算含量。

2.4 统计分析

采用 Excel 2007 进行实验数据整理,以 SPSS 10.0 对不同海拔间苗高的差别进行方差分析(ANOVA)和多重比较。

3 结果与分析

3.1 不同海拔梯度对暗紫贝母幼苗生长的影响

从表 2 中可以看出随海拔升高,暗紫贝母幼苗苗高呈先升高后降低的趋势,6 月份和 7 月份中海拔部位暗紫贝母幼苗苗高均显著高于低海拔和高海拔部位幼苗苗高,6 月份从高海拔到中海拔幼苗高从 7.03 cm 上升到 9.76 cm,7 月份从高海拔到中海拔幼苗高从 6.91 cm 上升到 9.78 cm。5 月份时,不同海拔梯度间大部分幼苗苗高不存在显著性差异,幼苗苗高在 2.2 cm ~ 3.1 cm 之间,这可能是幼苗正处于生长初期,还未对环境做出响应。

表 2 不同海拔梯度暗紫贝母幼苗生长情况

Tab. 2 Seedling growth of *Fritillaria unibracteata* at different elevation gradients

月份	A	B	C	D	E	F
5	2.51a	2.20a	2.57a	3.15b	2.43a	3.13b
6	7.03a	9.60b	8.65ab	9.76b	7.68ab	7.18a
7	6.91a	9.35bc	9.07b	9.78c	7.92d	7.54d

同一行不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Different letters within the same line mean significant difference among different treatments at 0.05 level.

从表 3 中可以看出,5 月~6 月份不同海拔间暗紫贝母幼苗苗高生长量均明显高于 6 月~7 月份幼苗苗高的生长量。5 月~6 月,生长量最高可达 7.40 cm。6 月~7 月份,高海拔部位出现了负增长情况,其余海拔间,幼苗苗高的生长量均低于 0.5 cm。

表 3 暗紫贝母不同生长时间幼苗苗高生长量的变化

Tab. 3 Change of seedling growth in different growth time

月份	A	B	C	D	E	F
5~6	4.53a	7.39b	6.08a	6.61b	5.26a	4.05c
6~7	-0.13a	-0.25a	0.42a	0.02a	0.23a	0.36a

同一行不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Different letters within the same line mean significant difference among different treatments at 0.05 level.

3.2 不同海拔梯度对暗紫贝母总生物碱含量的影响

得线性回归方程分别为:贝母素甲: $Y = 0.0094X + 0.0082$, 线性范围 2 μ g ~ 10 μ g, $r = 0.996$;总生物碱: $Y = 2.126X + 0.018$, 线性范围 0.05 mg ~ 0.29 mg, $r = 0.998$ (参见图 1)。

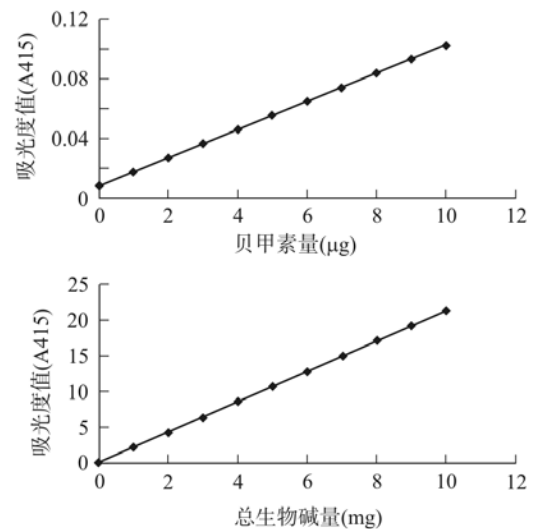


图 1 暗紫贝母总生物碱和贝母素甲含量

Fig1. Content of total alkaloids and peimine of *Fritillaria unibracteata*

不同海拔梯度暗紫贝母总生物碱含量如表 4 所示。从表 4 中可以看出,不同海拔梯度暗紫贝母总生物碱含量及贝母素甲含量存在差异,随着海拔的升高,总生物碱和贝母素甲含量均呈显著升高的趋势,高海拔部位暗紫贝母总生物碱含量是低海拔部位的 1.48 倍,说明高海拔环境利于暗紫贝母总生物碱的积累,这与暗紫贝母属于高山雪山植物有

关^[2,3]。

表 4 不同海拔暗紫贝母生物碱含量测定 (%)

Tab. 4 Determination of content of total alkaloids in *Fritillaria unibracteata* at different altitudes (%)

海拔	总生物碱	贝母素甲
低海拔	0.056a	0.016a
中海拔	0.068b	0.029b
高海拔	0.089c	0.046c

同一行不同小写字母表示处理间差异显著($p < 0.05$)。

Different letters within the same line mean significant difference among different treatments at 0.05 level.

4 小结与讨论

川西北位于青藏高原东南缘,该区域海拔高,积温低。海拔高度在很大程度上控制着其他环境及生物因子的组合形式和变异程度。植物常年生长于高山极端环境中,其生长状况及生存策略均可表现出对海拔因子的适应性^[7]。

本文研究了不同海拔梯度对暗紫贝母幼苗生长和总生物碱含量的影响,分析了不同海拔间幼苗苗高和总生物碱的差异显著性。研究结果表明,幼苗苗高和总生物碱含量均对海拔梯度变化有着极显著的响应,海拔过高过低都会对抑制暗紫贝母的生长,这是由于暗紫贝母属典型的高山植物,在海拔较低的地区这类植物通常无法正常繁殖生长^[8](刘先齐, 1994),高海拔地区气温低,积雪时间长,生长季短,这就限制了植物体中营养物质的积累^[9-10](Billings W D, 1974; Zhao *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2010),从而影响了暗紫贝母的生长。

海拔高度对植物体内总生物碱含量有很大程度上的影响,暗紫贝母在高海拔部位总生物碱含量相对较高,高原植物山萇蓂体内的山萇蓂碱、乌头属、地黄属及其他药用植物体内的生物碱含量,也都表现有相同的趋势^[11]。各个海拔部位暗紫贝母总生物碱的含量均在 0.1% 以内,这与王曙^[12]等用双相滴定法测定的暗紫贝母的总生物碱含量结果一致。

目前对药用植物化学成分的研究取得了一定进展,但对暗紫贝母的化学成分有许多尚待进一步研

究。习惯上用暗紫贝母的总生物碱含量作为其品质评价标准,但结果与传统用药经验有不符之处,而药理试验也多以总生物碱进行,对于其中某单一生物碱成分药理试验较少。因此,对暗紫贝母的主要基源种的化学成分深入研究,阐明其有效成分及各生物碱的药理活性,这对于暗紫贝母的质量控制及合理利用和开发贝母属植物资源有重要意义。

暗紫贝母在海拔过低的地方能否成活,以及总生物碱含量如何变化,这还有待于今后进一步的研究。

参考文献:

- [1] 徐国钧. 中草药彩包图谱(修订)[M]. 福州:福建科学技术出版社,1997:210~213.
- [2] 四川植物志编辑委员会. 四川植物志(第七卷)[M]. 成都:四川民族出版社,1991:57~59.
- [3] 青海植物志编辑委员会. 青海植物志(第四卷)[M]. 西宁:青海人民出版社,1999:277~278.
- [4] 徐波,王金牛,石福孙,等. 青藏高原东缘野生暗紫贝母生物量分配格局对高山生态环境的适应[J]. 植物生态学报,2013,37(3):187~196.
- [5] 陈士林,肖小河,陈善塘. 暗紫贝母植被分布格局的数值分析[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),1997,22(4):416~420.
- [6] 李娟,张鹏,张国欣,等. 息咳胶囊中湖北贝母总生物碱含量测定方法的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(12):947~948.
- [7] Körner C. Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems. 2nd edn. Springer-Verlag, Heidelberg, 2003.
- [8] Billings W D. Adaptations and origins of alpine plants [J]. Arctic, Antarctic and Alpine Research, 1974, 6: 129~142.
- [9] Zhao Z G, Du G Z, Zhou X H, et al. Variations with altitude in reproductive traits and resource allocation of three Tibetan species of Ranunculaceae [J]. Australian Journal of Botany, 2006, 54: 691~700.
- [10] Guo H, Mazer S J, Du G Z. Geographic variation in primary sex allocation per flower within and among 12 species of *Pedicularis* (Orobanchaceae): proportional male investment increases with elevation [J]. American Journal of Botany, 2010, 97: 1334~1341.
- [11] 张永清,李岩坤. 影响药用植物体内生物碱含量的因素[J]. 齐鲁中医药情报,1991,25(3):10~12.
- [12] 王曙,徐小平,李涛. 川贝母与其他贝母类药材总生物碱和总皂苷的含量测定与比较[J]. 中国中药杂志,2002,27(5):342~344.