

doi:10.11920/xnmdzk.2025.05.007

同一地理区域不同海拔甘松生长和药效成分含量研究

苏国忠¹,冯景秋^{2,3},丰日落¹,马英¹,李娟^{2,3},盛华春^{2,3},刘圆^{2,3}

(1.西南民族大学药学与食品学院,四川成都610041;2.青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室,四川成都610225;3.西南民族大学草地资源学院,四川成都610225)

摘要:为探究不同气候因子和土壤理化性质对甘松生长和药效物质含量的影响,以四川格西沟国家级自然保护区内同一坡面不同海拔野生甘松及根际土壤为研究材料,测定不同海拔甘松叶片特征和药效物质含量,并与不同海拔气候因子及土壤理化性质进行关联分析。研究结果表明,随着海拔的升高,在土壤理化性质方面,土壤全氮、速效氮和有机质呈升高趋势,而土壤pH则呈降低趋势;在气候方面,甘松生长环境平均气温逐渐降低,而平均降水量逐渐增加;在叶片性状方面,甘松叶长、叶宽、叶面积、比叶面积和气孔面积呈减小趋势;叶片厚度、栅栏组织厚度、叶脉密度和气孔密度呈增大趋势;在药效物质方面,甘松黄酮、绿原酸、异绿原酸B、蒙花苷含量呈增加趋势,而异绿原酸A、异绿原酸C含量则呈降低趋势。相关性分析表明,甘松形态特征与甘松药效物质含量紧密相关,而显微解剖特征差异则不显著;pH、全氮、速效氮等土壤理化性质及年均气温和降水量显著影响绿原酸和异绿原酸B含量。甘松生长与海拔紧密相关,主要表现在海拔对生境气温和降水量的影响,进而影响甘松生长发育导致药效物质含量的变化。因此,在甘松规模化种植中要保证足够光照,避免林下或林缘种植,应在开阔且肥沃的土地中种植。

关键词:性状;海拔;气候因子;土壤理化性质;药效物质;甘松

中图分类号:R284.1

文献标志码:A

文章编号:2095-4271(2025)05-0523-10

Study on the growth and contents of medicinal components of *Nardostachys jatamansi* DC. at different altitudes in the same geographic region

SU Guozhong¹, FENG Jingqiu^{2,3}, FENG Riluo¹, MA Ying¹, LI Juan^{2,3}, SHENG Huachun^{2,3}, LIU Yuan^{2,3}

(1.School of Pharmacy and Food, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China; 2.State Ethnic Affairs Commission Key Laboratory of Protection and Utilization of Ethnic Medicinal Resources on Qinghai-Tibet Plateau, Chengdu 610225, China; 3.School of Grassland Resources, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China)

Abstract: To investigate the effects of the climate factors and the physicochemical properties of rhizospheric soil on plant growth and the contents of medicinal components in *Nardostachys jatamansi*. The *N. jatamansi* species distributed at different altitudes and rhizospheric soils were used as materials to determine the leaf morphological and anatomical traits, the physicochemical properties of rhizospheric soil, as well as the contents of medicinal components in the Gexigou National Nature Reserve, Sichuan Province. The annual mean temperature of the *N. jatamansi* growing environment gradually decreased with increasing altitude, while the annual mean precipitation gradually increased. Except for soil pH, the soil total nitrogen, available nitrogen, and organic

收稿日期:2025-02-22

作者简介:苏国忠(1997-),男,在读硕士,研究方向:民族药用资源保护与利用.E-mail:2532929304@qq.com;冯景秋(1993-),男,助理研究员,博士,研究方向:药用资源收集、品质评价及新品种选育、药用植物生理生态适应及保护与利用.E-mail:fengjingqiu2865@163.com.苏国忠与冯景秋为共同一作

通信作者:刘圆(1968-),女,教授,博士,研究方向:民族药资源品质评价.E-mail:499769896@qq.com

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(32401299);2021年国家民委领军人才支持计划;西南民族大学引进人才科研启动金资助项目(RQD2023020);青藏高原民族医药创新团队(2024CXTD04)

matter contents of soil had an increase trend with the rising of altitude in the physicochemical properties of soil. In terms of leaf traits, the leaf length, leaf width, leaf area, specific leaf area and stomata area had a decrease trend with the rising of altitude; on the contrary, leaf thickness, palisade tissue thickness, vein density, and stomatal density increased. Moreover, an increasing trend was found in the contents of nardosinone, chlorogenic acid, isochlorogenic acid B, and linarin with the rising of altitude, while the contents of isochlorogenic acid A and isochlorogenic acid C were reduced. Otherwise, the leaf morphology traits were closely correlated with the contents of medicinal components, while the leaf anatomy traits did not show the same correlation. The soil pH, the soil total nitrogen, available nitrogen, annual mean temperature and annual mean precipitation were significantly correlated with the contents of medicinal components as well. The growth of *N. jatamansi* was significantly influenced by altitude, which had various annual mean temperatures and annual mean precipitation, and further affected the contents of medicinal components. Therefore, it is crucial to guarantee an optimal lighting for the large-scale cultivation of *N. jatamansi*. Planting in understory or forest edge areas should be avoided due to insufficient light conditions. Instead, open areas with fertile soil and ample sunlight exposure should be selected for planting.

Keywords: trait; altitude; climate factor; soil nutrient; medicinal component; *Nardostachys jatamansi*

甘松(*Nardostachys jatamansi* DC.)为多年生药用植物,被《中国药典》收载^[1],药用部位为根及根茎。甘松根及根茎含有绿原酸、甘松新酮等药效物质^[2]。传统上甘松主要用于脘腹胀满,食欲不振,呕吐;外用治牙痛,脚气肿毒,亦常作香料、食品和化妆品的原料^[3]。近年来由于中药的推广与普及,甘松的需求呈增加的趋势,致使人为的非法采集和过度采挖,甘松被列入《国家重点保护野生植物名录》中,为二级保护植物。因此,开展甘松的栽培相关的研究对于甘松的保护和实现甘松规模化种植具有重要的现实意义。然而,目前有关甘松生长对环境的响应及其对药效物质的影响的研究仍然缺乏。

药效物质的种类和含量决定药用植物的品质,而药效物质的形成与药用植物的遗传物质、栽培措施、生长环境密切相关^[4-5]。其中,海拔是重要的地形因子并直接决定气候,通常随着海拔的升高平均气温、降水量、紫外线强度等呈规律性变化^[6]。因此,海拔梯度是研究植物对环境适应的重要天然试验地^[7]。海拔不仅影响药用植物的形态特征而且对药效物质含量的影响也较为显著。例如,高海拔桃儿七的生物量和鬼臼毒素含量显著大于低海拔生长的植株,分析其原因该结果与高海环境恶劣有关^[8-9]。另外,不同海拔由于土壤养分差异较大,药用植物药效物质的含量也存在显著差异^[10]。然而,由于不同药用植物对环境的响应存在差异,目前仍然不清楚海拔对甘松生长和药效物质的影响。

甘松生长海拔为 3 000~5 200 m,呈现较大差异,不同海拔甘松形态、药效物质含量等可能存在较大差异。以往研究将不同地理环境和不同海拔的甘松药效物质进行比较,发现挥发油、甘松新酮、绿原酸存在差异^[11-13]。在前期调查过程中,发现甘松植株或叶片形态存在较大差异,并依据甘松叶鞘和叶片形态将其分为两种类型,第一类甘松具有匙叶形叶片和纤维状叶鞘,第二类甘松具有披针形叶片和片状叶鞘。然而,目前较多的研究仅关注第二类甘松,而对第一类甘松的研究较少。因此,本研究在同一地理区域对不同海拔匙叶形甘松的生长特征和药效特征与环境特征进行综合分析,以探究不同气候因子和土壤理化性质对甘松生长和药效物质含量的影响,以期对甘松的人工栽培、品种选育及保护提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验材料为 3 年生成熟野生甘松植株,经西南民族大学刘圆教授鉴定为败酱科植物甘松属甘松,于 9 月初在不同海拔采集(表 1)。成熟叶片用 FAA 固定液固定,用于叶片解剖结构特征分析。新鲜药材置于黑色塑料袋带回实验室阴干,用于药效物质含量测定。由于研究区域甘松呈聚集性分布,因此在分布中心位置相距 2 米处,去除甘松和表层枯落物后取 3 点土壤混匀,带回实验室阴干,用于土壤理化性质分析。

表 1 样品来源信息

Table 1 Source information of samples

样品编号	经度/°	纬度/°	海拔/m	生境及主要伴生植物
G1	100.900 14	29.971 78	3 800	沟边裸露空地;尼泊尔香青、委陵菜等
G2	100.896 99	29.968 44	3 900	东南坡沟边林下;绣线菊、蓼属、蕨类等
G3	100.896 27	29.965 10	4 000	东南坡沟边林下;葱属、积雪草、蕨类等
G4	100.895 23	29.961 88	4 100	东南坡林下;金露梅、柳叶菜、老鹳草等
G5	100.893 85	29.958 66	4 200	东南坡草地;杜鹃属、珠芽蓼、箭叶橐吾等
G6	100.892 71	29.952 44	4 300	东南坡草地;川木香、高山韭、马先蒿等
G7	100.896 47	29.949 59	4 400	西北坡草地;白花刺参、珠芽蓼、银莲花等

1.2 仪器与试剂

美国 MD 全波长酶标仪 SpectraMax190、HY-6 大容量振荡器、SX4-7-12 陶瓷纤维马弗炉、岛津液相 DGU-20A 5R、蔡司正置显微镜 Axioscope 5、数控超声波清洗器 KQ-250DE 型等。

绿原酸对照品(批号 MUST-21070910,纯度 99.40%)、异绿原酸 B(批号 RP220619,纯度 99.05%)和蒙花苷对照品(批号 RP200415,纯度 98.85%)购自成都麦德生科技有限公司;异绿原酸 A(批号 111782-201807,纯度>98%)购自中国食品药品检定研究院;异绿原酸 C(批号 20080802,纯度>98%)购自四川省维克奇生物技术有限公司;甘松新酮对照品(批号 19112604,纯度>98%)购自成都普菲德生物技术有限公司。其他试剂有无水乙醇、乙腈等。

1.3 样品处理

1.3.1 气候数据获取

本研究采用环境数据共 7 个,包括年均气温、年均降水量、最湿月降水量、最干月降水量、最热月最高温度、最冷月最低温度、年变化温度。从 World Clim 网站下载历史气候数据,月平均温和生物气候变量的空间分辨率都选用 30 arc Seconds。利用 R 软件(版本 4.1.0)提取相应环境数据。

1.3.2 土壤理化性质测定

土壤 pH、全氮、全磷、全钾、速效氮、速效磷、速效钾和有机质分别采用电位法、凯氏法、NaOH 碱熔-钼锑抗分光光度法、NaOH 熔融法、碱解扩散法、分光光度法、乙酸铵浸提法和重铬酸钾容量法进行测定。

1.3.3 甘松结构特征测定

比叶面积:每一海拔梯度取不同植株 6 片成熟叶片,测定叶片面积后将叶片编号,然后将叶片置于

65 °C 烘箱中烘干至恒重,比叶面积即为叶面积与叶干重之比。叶脉密度:取甘松叶片中部叶脉两侧位置一小块叶片,制成临时玻片,在光学显微镜下观测,记录 7 个不同视野图片,用 ImageJ 软件测量叶脉长度,叶脉密度为叶脉长度与固定视野面积之比。气孔密度及气孔面积:采用无色指甲油印痕法制片,取甘松叶片中部叶脉两侧部分,在叶片上下表皮分别涂一层无色指甲油,待风干后将叶片上下表皮指甲油撕下,制成临时玻片,于光学显微镜下观测,统计固定视野内上下表皮气孔个数,气孔密度即为气孔个数与固定视野面积之比;用 ImageJ 软件测量甘松叶片上下表皮气孔长度和气孔宽度,之后计算气孔面积。以上每个处理 6 次重复。

叶片解剖厚度、栅栏组织厚度、角质层厚度:取甘松叶片中部一小块用 FAA 固定液固定,采用石蜡切片法制片,番红-固绿双重染色,制成叶片解剖横切片,用光学显微镜观察叶片厚度、栅栏组织、角质层,然后用 ImageJ 图片分析软件进行测量。

1.4 甘松药效成分测定

1.4.1 色谱条件

WondaSil C18-WR5 μm 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm);检测波长:254 nm 和 327 nm;流动相:乙腈(B)-0.1%磷酸溶液(A),梯度洗脱,0~4 min,15%~23%B,4~10 min,23%B,10~12 min,23%~36%B,12~18 min,36%~48%B,18~20 min,48%~60%B,20~25 min,60%~75%B,25~30 min,75%~95%B;柱温:30 °C;流速:0.8 mL \cdot min⁻¹;进样量:10 μL 。

1.4.2 供试品提取制备

精密称取甘松药材粉末(过 3 号筛)约 0.5 g,置于 150 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 20 mL 甲醇,超声

提取 30 min, 放冷, 补足质量, 摇匀, 续滤液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得.

1.4.3 对照品样品制备

取绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、蒙花苷、甘松新酮, 分别精密称定并置于 10 mL 容量瓶内, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 制成浓度分别为 0.854 0、0.904 0、0.520 0、0.576 0、0.365 0 mg、1.104 0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品.

表 2 回归方程和线性范围

Table 2 Regression equations and linear ranges

成分	回归方程	r	线性范围(mg/mL)
绿原酸	$Y=3.795\times 10^7 X-2.566\times 10^5$	0.999 5	0.005 3~0.854 0
异绿原酸 B	$Y=3.467\times 10^7 X-4.698\times 10^4$	0.999 7	0.003 3~0.104 0
异绿原酸 A	$Y=4.186\times 10^7 X-5.943\times 10^4$	0.999 9	0.005 6~0.180 8
异绿原酸 C	$Y=4.378\times 10^7 X+7.511\times 10^3$	0.999 8	0.000 9~0.028 7
蒙花苷	$Y=2.648\times 10^7 X-3.521\times 10^3$	1.000 0	0.002 2~0.073 0
甘松新酮	$Y=2.242\times 10^7 X+2.331\times 10^3$	1.000 0	0.003 4~0.110 4

1.4.5 精密度试验

取供试样品 G2, 按相同色谱条件连续进样 6 次, 记录绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、甘松新酮峰面积, 其 RSD 值分别为 0.28%、0.40%、0.25%、2.81%、0.97%、1.09%, 表明仪器精密度良好.

1.4.6 重复性试验

取同一批供试样品(G5)6份, 记录峰面积, 计算绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、甘松新酮含量, 其 RSD 值分别为 3.07%、4.63%、2.57%、3.98%、3.58%、1.39%, 表明重复性良好.

1.4.7 稳定性试验

取同一供试样品(G7), 分别于 0、6、12、24、48、72 h 进样, 测定峰面积, 计算含量. 绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、甘松新酮含量 RSD 分别为 1.49%、2.33%、1.31%、0.79%、3.41%、1.34%, 表明供试品在 72 h 内稳定.

1.4.8 加样回收率试验

精密称定 6 份已测定的样品(G5)约 0.25 g, 分别加入混合对照品溶液 5 mL. 按方法进样, 测定峰面积, 计算回收率. 结果绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、蒙花苷、甘松新酮加样回收率 RSD 分别为

1.4.4 线性关系考察

取绿原酸、异绿原酸 A、异绿原酸 B、异绿原酸 C、蒙花苷、甘松新酮混合对照品(初始浓度分别为 0.854 0、0.904 0、0.520 0、0.576 0、0.365 0、1.104 0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 依次对半稀释 7 次. 按色谱条件测定系列混合对照品溶液, 记录峰面积, 以浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程(表 2).

3.40%、1.12%、2.91%、2.49%、2.07%、3.12%.

1.4.9 HPLC 图

如下图 1 所示, 分别为样品(I)和混合对照品(II)在 254 nm 和 327 nm 下的 HPLC 图.

1.5 数据处理

利用 SPSS 20.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA) 中单因素方差分析(one-way ANOVA)在 $P=0.05$ 水平上检验不同海拔叶片形态解剖结构特征、土壤理化性质和药效物质含量的差异, 并对各指标进行相关性分析. 利用 Sigma Plot 10.0(Systat Software Inc., CA, USA) 和图像软件(Adobe Photoshop 14.0, Adobe Systems Inc., CA, USA) 进行图片的制作.

2 结果与分析

2.1 甘松采集地不同海拔气候分析

随着海拔的升高, 甘松样品采集地的温度和降水呈规律性变化(图 2 和表 3). 同一年份, 不同海拔温度最高都出现在 7—8 月, 最低温度都出现在 1 月和 12 月; 同一年同一月份, 海拔越高温度越低. 随着海拔的上升, 实验地年平均温度逐渐降低, 而年平均降水量则逐渐增加; 实验地年平均温度相差 2.5 $^{\circ}\text{C}$, 年均降水量相差 19.3 mm.

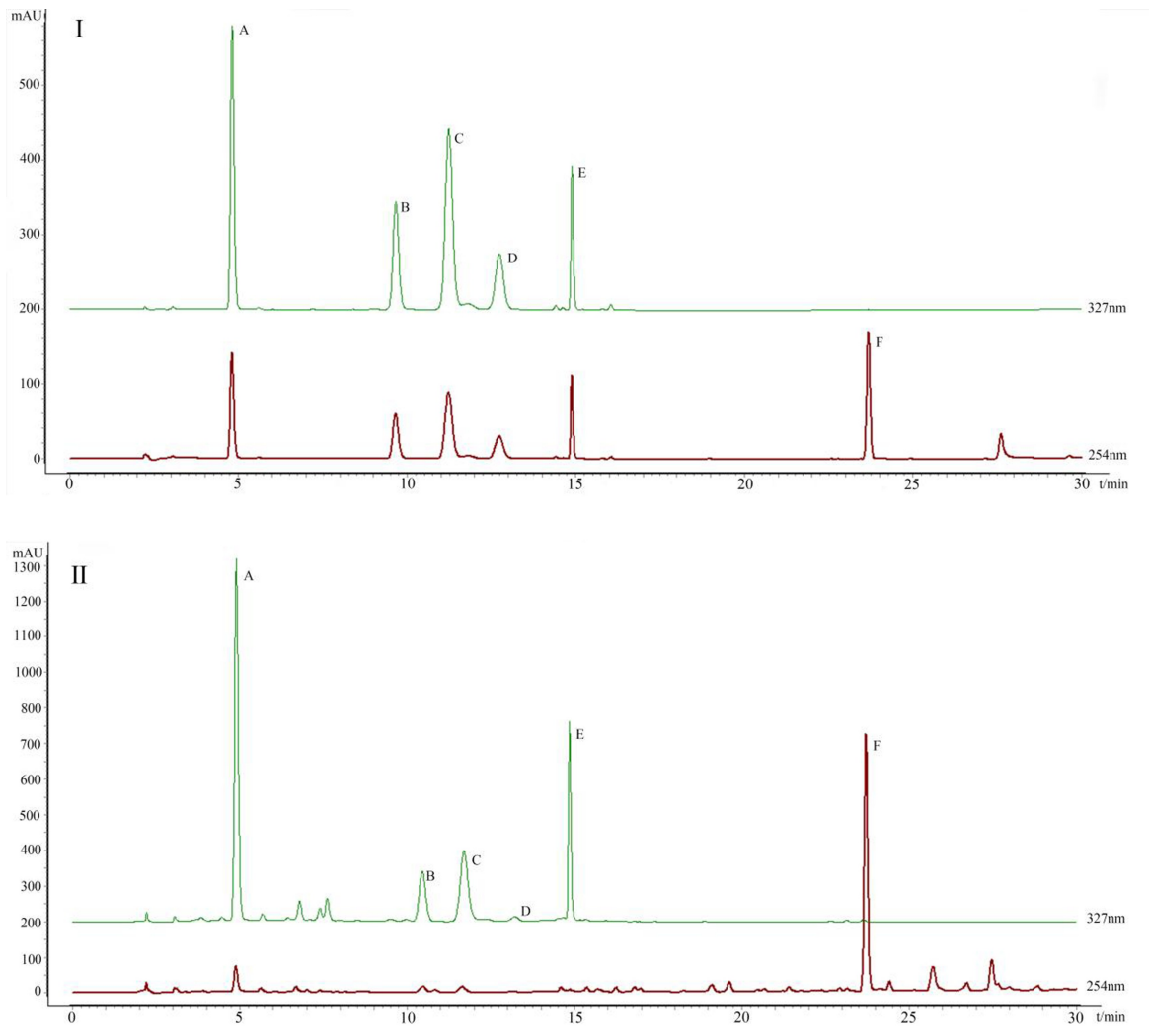


图 1 混合对照品(I)和甘松样品 G5(II)的色谱图.

Fig.1 Chromatogram of mixed standard solution (I) and test sample solution (II)

注: A.绿原酸; B.异绿原酸 B; C.异绿原酸 A; D.异绿原酸 C; E.蒙花苷; F.甘松新酮

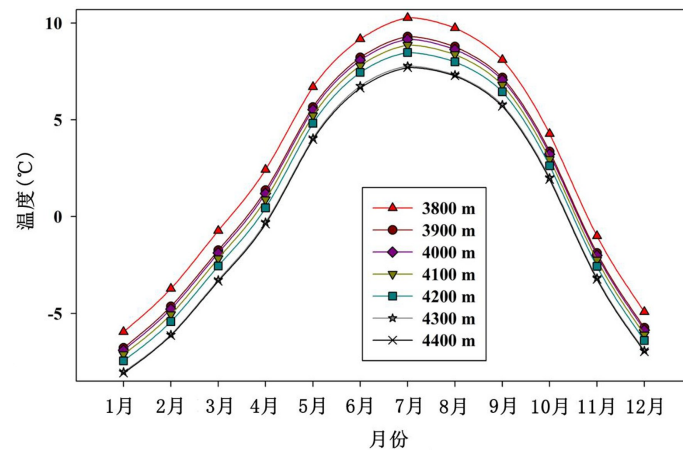


图 2 不同月份不同海拔月平均温度

Fig.2 Month mean temperature at different altitudes in different months

表 3 不同海拔气候数据

Table 3 Climate data at different altitudes

样品编号	海拔 /m	年均气温 /°C	年均降水量 /mm	最湿月降水量 /mm	最干月降水量 /mm	最热月最高温度/°C	最冷月最低温度/°C	年变化温度 /°C
G1	3800	2.9	688.5	155.2	1.0	15.1	-14.4	29.5
G2	3900	2.0	694.6	156.2	1.2	14.1	-15.4	29.4
G3	4000	1.8	696.4	156.4	1.4	13.9	-15.5	29.4
G4	4100	1.5	698.6	156.6	1.6	13.6	-15.7	29.4
G5	4200	1.2	699.8	156.8	1.8	13.2	-16.1	29.4
G6	4300	0.5	705.8	157.5	2.0	12.4	-16.8	29.2
G7	4400	0.4	707.8	157.4	2.0	12.4	-16.8	29.2

2.2 不同海拔甘松土壤理化性质分析

整体上,研究地土壤 pH 为 4.87~5.63,呈酸性.其他不同海拔土壤理化性质存在较大差异(图 3).土壤全氮为 3.73~10.33 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 5.82 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.土壤全磷为 0.62~1.41 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 0.90 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.土壤全钾为 14.15~26.54 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 19.78 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.土壤速效氮为 268.09~708.69 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 441.48 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.土壤速效磷为 1.78~19.68 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 6.81 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.土壤速效钾为 143.48~416.74 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 233.23 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.土壤有机质为 74.24~189.84 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,平均为 109.84 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.随着海拔的升高,土壤全氮、速效氮和有机质呈升高的趋势,而土壤 pH 则呈降低的趋势.

2.3 不同海拔甘松叶片形态解剖结构分析

不同海拔甘松叶片形态解剖结构存在较大差异(表 4).总体上,随着海拔的升高,叶长、叶宽、叶面

积、比叶面积和气孔面积呈减小趋势;叶片厚度、叶脉密度、气孔密度和栅栏组织呈增大趋势.

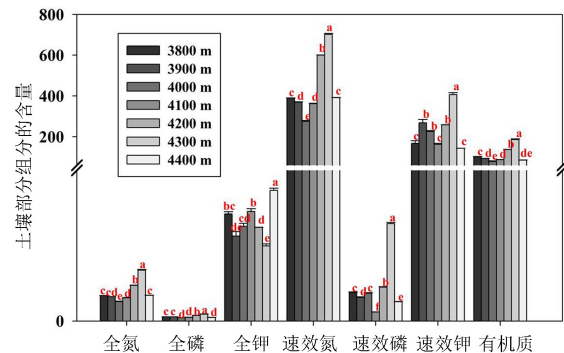


图 3 不同海拔土壤理化性质

Fig.3 Soil physical and chemical properties at different altitudes
注:全氮、全磷、全钾和有机质的单位为 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;速效氮、速效磷和速效钾的单位为 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.不同字母表示同一指标在不同海拔下的差异达到显著水平($P < 0.05$).下同

表 4 不同海拔叶片结构特征

Table 4 Leaf structural characteristics at different altitudes

性状	海拔/m						
	3800	3900	4000	4100	4200	4300	4400
叶长/cm	15.63±0.75 ^{ab}	17.64±0.74 ^a	17.40±0.65 ^a	16.55±0.63 ^{ab}	15.13±0.64 ^{ab}	15.51±0.38 ^{ab}	13.81±1.03 ^b
叶宽/cm	1.90±0.12 ^a	2.29±0.20 ^a	2.01±0.06 ^a	1.83±0.06 ^a	2.16±0.12 ^a	1.95±0.06 ^a	1.80±0.09 ^a
叶面积/cm ²	14.78±1.12 ^b	22.02±2.25 ^a	15.91±1.10 ^b	13.84±0.50 ^b	15.18±1.00 ^b	15.28±0.66 ^b	12.39±0.63 ^b
比叶面积/cm ² ·g ⁻¹	167.43±14.68 ^a	145.30±7.00 ^{ab}	172.65±10.85 ^a	171.18±7.44 ^a	123.43±7.57 ^b	152.67±8.65 ^{ab}	124.32±7.46 ^b
叶片厚度/μm	391.21±16.62 ^a	400.77±18.44 ^a	374.60±17.55 ^a	415.29±12.98 ^a	398.61±9.77 ^a	414.42±14.18 ^a	417.09±14.98 ^a
叶脉密度/mm·mm ²	1.84±0.05 ^b	2.10±0.09 ^{ab}	1.91±0.09 ^{ab}	2.01±0.08 ^{ab}	1.88±0.09 ^{ab}	1.97±0.03 ^{ab}	2.19±0.07 ^a
气孔密度/个 mm ⁻²	57.37±4.43 ^a	75.46±7.16 ^a	58.46±6.25 ^a	64.32±4.12 ^a	59.32±5.89 ^a	64.56±3.20 ^a	75.43±5.23 ^a
气孔面积/μm ²	1 007.94±45.37 ^a	935.11±36.26 ^{ab}	970.01±19.86 ^{ab}	994.35±51.58 ^{ab}	1 022.01±30.43 ^a	931.58±15.02 ^{ab}	844.58±20.98 ^b
栅栏组织厚度/μm	165.63±12.18 ^a	139.37±9.96 ^{ab}	122.20±6.36 ^b	150.45±5.64 ^{ab}	157.45±4.06 ^a	152.39±6.37 ^{ab}	166.52±7.69 ^a
上角质层厚度/μm	6.8±0.78 ^a	2.64±0.44 ^b	1.69±0.30 ^b	1.75±0.25 ^b	1.73±0.27 ^b	2.00±0.20 ^b	2.15±0.17 ^b
下角质层厚度/μm	5.70±0.42 ^a	2.22±0.35 ^b	2.00±0.24 ^b	1.86±0.23 ^b	1.96±0.35 ^b	1.77±0.46 ^b	2.30±0.19 ^b

注:肩标不同字母表示同一指标在不同海拔下的差异达到显著水平($P < 0.05$).

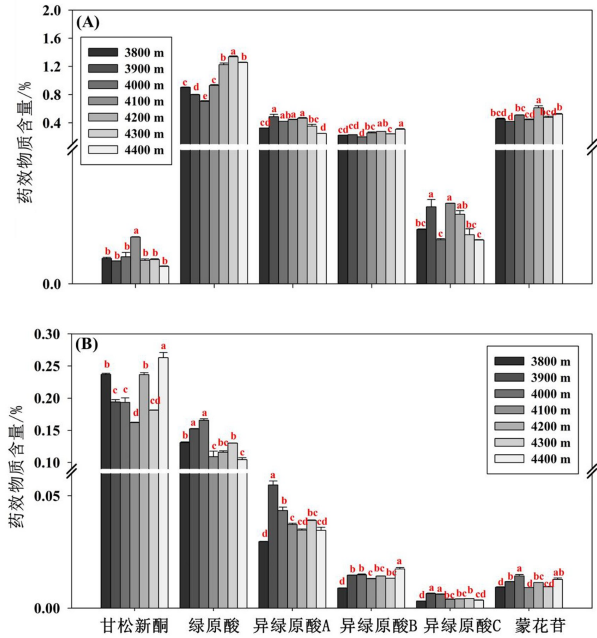
2.4 不同海拔甘松药效成分分析

不同海拔甘松叶片和根及根茎药效成分含量较大差异(图 4).甘松叶片绿原酸为 0.70%~1.34%,平均为 1.02%;异绿原酸 B 为 0.20%~0.31%,平均为 0.25%;异绿原酸 A 为 0.25%~0.49%,平均为 0.39%;异绿原酸 C 为 0.02%~0.03%,平均为 0.02%;蒙花苷为 0.42%~0.61%,平均为 0.49%;甘松新酮为 0.01%~0.02%,平均为 0.01%.甘松根及根茎绿原酸的含量为 0.10%~0.17%,平均为 0.13%;异绿原酸 B 为 0.01%~0.02%,平均为 0.01%;异绿原酸 A 为 0.03%~0.05%,平均为 0.04%;异绿原酸 C 为 0.003%~0.006%,平均为 0.004%;蒙花苷为 0.009%~0.013%,平均为 0.011%;甘松新酮为 0.16%~0.26%,平均为 0.21%.根据《中国药典》2020 版对甘松含测的规定,甘松新酮含量不低于 0.1%,本实验不同批次甘松中甘松新酮含量均符合中国药典的规定.

2.5 相关性分析

甘松叶片形态解剖结构与药效物质具有一定相关性(图 5).叶长与栅栏组织厚度、绿原酸、异绿原酸 B 显著负相关($P < 0.05$).叶宽与叶面积显著正相关($P < 0.05$).比叶面积与异绿原酸 B 显著负相关($P < 0.05$).上角质层厚度与下角质层厚度显著正相关($P <$

0.01).叶脉密度与气孔密度显著正相关($P < 0.01$),与气孔面积显著负相关($P < 0.05$).气孔密度与气孔面积显著负相关($P < 0.05$).



A.叶片;B.根及根茎.

图 4 不同海拔甘松药效成分.

Fig.4 Active components of *Nardostachys jatamansi* at different altitudes.

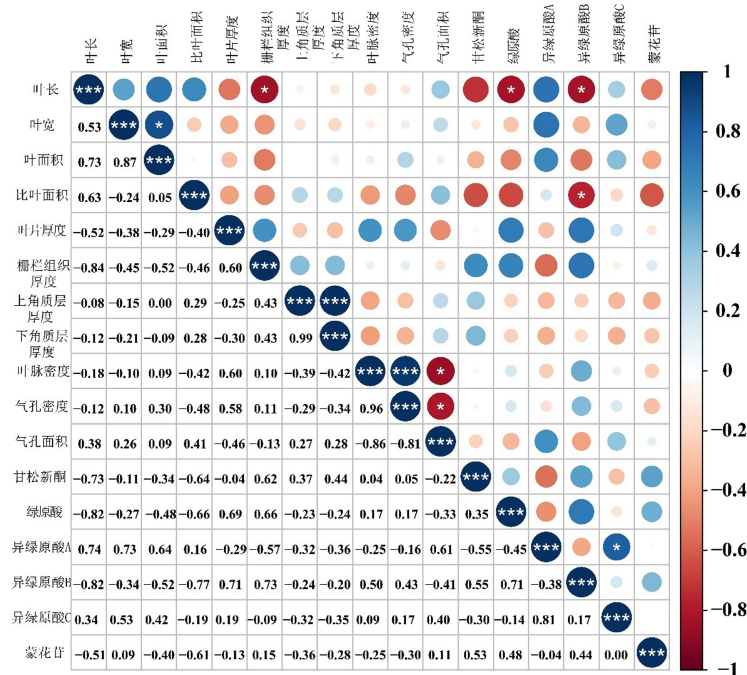


图 5 叶片性状与药效物质的关系.

Fig.5 Relationship between leaf traits and active components

注:上三角圆圈大小表示显著性,下三角数字表示相关性系数.下同

同样,甘松来源地海拔、土壤理化性质、年均气温、年均降水量与甘松药效物质之间大多存在一定的相关性(图 6).海拔与绿原酸显著正相关($P < 0.05$); pH 与异绿原酸 B 显著负相关($P < 0.05$),全氮和速效

氮与绿原酸均显著正相关($P < 0.05$);年均气温与绿原酸显著负相关($P < 0.05$),年均降水量与绿原酸显著正相关($P < 0.05$).

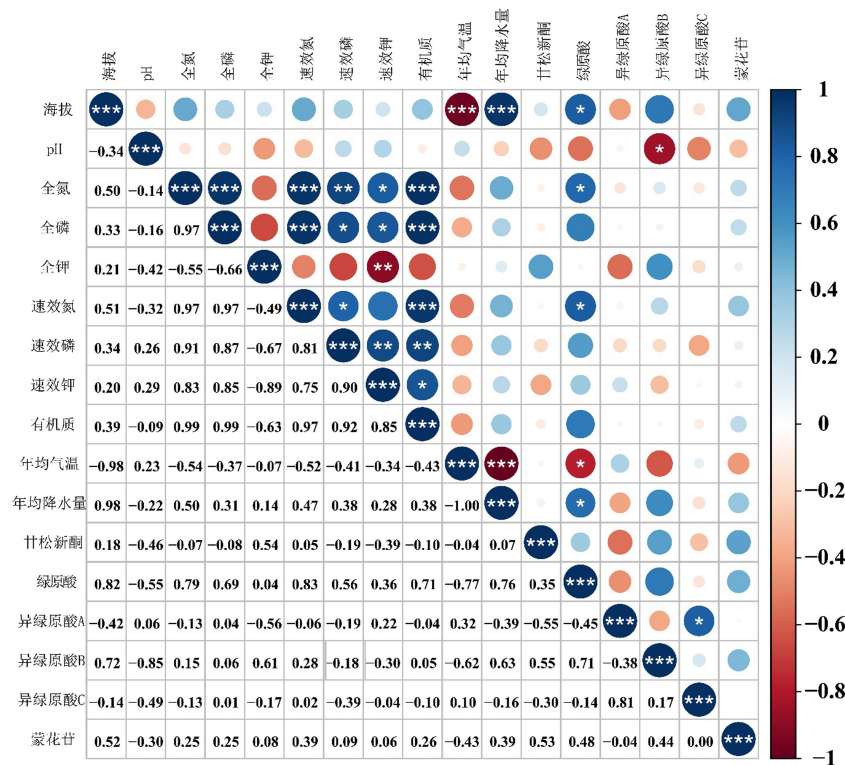


图 6 海拔、土壤理化性质、气候因子与药效物质的关系.

Fig.6 Relationship between altitude, soil physicochemical properties, climatic factors and active components.

3 讨论

本研究中甘松生长环境土壤 pH 为 4.89~5.63,呈酸性,该结果与前人对雅江大部分区域土壤 pH 的研究结果一致^[14],表明甘松适宜偏酸性的土壤生长.参照全国第二次土壤普查养分分级标准,本研究区域土壤速效氮和有机质达到“丰”的分级标准,速效钾为“稍丰”以上,而速效磷为“缺”水平,该结果与崔琪^[15]对其他区域甘松土壤养分研究结果相似.土壤理化性质与海拔、气候、生物等诸多因素紧密相关,表现出较强的空间异质性.本研究中随着海拔的升高,土壤全氮、速效氮和有机质呈升高趋势,并且土壤全氮、速效氮和有机质之间显著正相关,该结果与陈虹宇等人^[16]对不同海拔连翘土壤理化性质的研究相一致.通常认为土壤的氮含量来自土壤有机质的分解.本研究

中,从低海拔到高海拔,甘松从林下到草坪分布,由于分布周边植物丰富产生枯落物较多使该地区土壤速效氮和有机质较为丰富.此外,本研究中海拔与温度和降雨显著正相关,而温度和降雨显著影响土壤微生物活动进而造成土壤有机质与海拔呈现一定规律性的变化.值得注意的是研究区域土壤磷缺乏,这与全球土壤低磷共性一致,在酸性土壤中磷的难溶性使得土壤速效磷缺乏^[17].土壤磷显著影响药用植物的根系结构,低磷环境中植物通常采取增加根表面积以获取更多磷元素,由于甘松主要以根茎入药,因此在今后的研究中应多关注磷元素对甘松根系发育的影响.

随着海拔的升高甘松的叶长、叶宽、叶面积和比叶面积显著降低(表 4),表明海拔显著影响甘松的生长,该结果可能与不同海拔特定的生境相关.本研究

中低海拔区域甘松生长于林下,该生境由于林木遮挡而光照不足,而高海拔区域甘松生长于高山裸露草地则光照充足.低光照下植物为了获取足够光源,通常通过增加地上生物量(例如株高增加、叶长和叶面积增加)来获取更多光源.例如,有研究表明低光照下三七(*Panax notoginseng*)的地上生物量显著高于高光照条件^[18].比叶面积与植物的光合作用紧密相关,低光照下比叶面积较大,可以使植物增加叶面积进而捕获更多光能从而适应低光环境^[19].此外,与本研究结果类似,研究人员发现高海拔的矮火绒草(*Leontopodium nanum*)叶长呈减小趋势,该结果可能与植物适应随着海拔升高气温降低相关^[20].这些结果表明甘松可以通过调控叶片形态以适应不同海拔光照和温度的变化.

叶片的解剖结构与海拔紧密相关.本研究中,甘松叶片厚度、栅栏组织、叶脉密度和气孔密度随海拔的升高呈增大趋势,而气孔面积呈减小趋势(表4).较厚的叶片和栅栏组织有助于植物叶片积累热量,防止叶片冻伤.另外,较厚的叶片和栅栏组织以及致密的叶脉能够有效降低紫外线辐射对植物的侵害,提高水分利用效率促进光合作用效率及增强抗胁迫的能力^[6].这些结果表明甘松与其他适应于高海拔生长的植物一样,可以通过增加叶片厚度、栅栏组织厚度、叶脉密度和气孔密度以应对高海拔的低温和强光环境.

海拔直接决定气候因子,通常随着海拔的升高平均气温、降水量、氧分压、紫外线强度等呈规律性变化.本研究中,随着海拔的年平均气温和年均降水量呈相反的变化趋势,其中年平均气温随海拔的升高而降低,并且同一年同一月份不同海拔的气温变化趋势也与此相一致(表3).然而,随着海拔的升高,温度没有呈现规律性的增加,这可能与研究区域不同采样点的植被覆盖和植被类型相关.海拔或其他环境因子显著影响药用植物次生代谢产物的积累^[21].本研究中海拔4400m的甘松根及根茎甘松新酮显著高于其他海拔(图4),这可能与该分布点的气候环境相对恶劣有关,例如强风、强紫外线和强光照.此外,随海拔的升高,甘松中绿原酸的含量呈升高趋势,这可能是由于高海拔环境恶劣,绿原酸的积累有助于提高植物的抗寒性、抗旱性以及抵御辐射.除气候因子外,本研究

还发现土壤pH、全氮、速效氮与绿原酸、异绿原酸B有显著的相关性.土壤理化性质对药用植物药效物质具有重要影响.例如,张际昭等人^[22]研究发现较低土壤pH和较低全氮、速效钾、有机质含量更有利于新疆紫草(*Arnebia euchroma*)主要药效成分的积累.此外,甘松的叶宽、比叶面积与绿原酸和异绿原酸B含量显著负相关,这反映了植物在生长与防御之间的权衡,在高海拔地区需要较多次生代谢物以抵抗生物胁迫从而导致自身生长受限.总体上,海拔、土壤pH、全氮、全钾、速效氮和有机质对甘松药效成分具有较大影响,并且也影响甘松的产量.

4 结论

通过格西沟自然保护区不同海拔气候因子和土壤理化性质对甘松生长和药效物质含量的影响研究,结果表明,甘松生长喜好于酸性土壤环境,在海拔相对较高的区域,土壤全氮、速效氮、速效磷、速效钾和有机质都相对较高,并且在高海拔且没有植被直接遮挡的生境中甘松指标性成分甘松新酮含量也相对较高.因此,在甘松规模化种植中要保证足够光源,避免林下或林缘种植,应在开阔且肥沃的土地中种植.

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典—一部:2020年版[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] CHAUHAN H K, OLI S, BISHT A K, et al. Review of the biology, uses and conservation of the critically endangered endemic Himalayan species *Nardostachys jatamansi* (Caprifoliaceae) [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2021, 30(12): 3315-3333.
- [3] 于素玲, 叶霄, 贾国夫, 等. 青藏高原药用植物甘松研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(19): 243-250.
- [4] YANG L, WEN K S, RUAN X, et al. Response of plant secondary metabolites to environmental factors [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 762.
- [5] 曾燕, 郭兰萍, 杨光, 等. 环境生态因子对药用植物皂苷成分的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(17): 313-318.
- [6] LIU W S, ZHENG L, QI D H. Variation in leaf traits at different altitudes reflects the adaptive strategy of plants to environmental changes [J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10(15): 8166-8175.
- [7] KÖRNER C. The use of 'altitude' in ecological research [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2007, 22(11): 569-574.
- [8] LI M F, GE L, KANG T L, et al. High-elevation cultivation increases an-

- ti-cancer podophyllotoxin accumulation in *Podophyllum hexandrum* [J]. *Industrial Crops & Products*, 2018, 121: 338-344.
- [9] LI M F, SUN P, KANG T L, et al. Mapping podophyllotoxin biosynthesis and growth-related transcripts with high elevation in *Sinopodophyllum hexandrum* [J]. *Industrial Crops & Products*, 2018, 124: 510-518.
- [10] LI M F, LI W, YANG D L, et al. Relationship between podophyllotoxin accumulation and soil nutrients and the influence of Fe^{2+} and Mn^{2+} on podophyllotoxin biosynthesis in *Podophyllum hexandrum* tissue culture [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 71: 96-102.
- [11] 余海清, 彭克忠, 何超群, 等. 四川甘孜州不同产地甘松药材的挥发油成分分析 [J]. *安徽农业科学*, 2019, 47(20): 199-203.
- [12] WEN J W, ZHOU LL, LIU L Q, et al. Analysis of the impact of climate change on the distribution and active compound content of the plateau medicinal plant *Nardostachys jatamansi* (D. Don) DC [J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 187: 115438.
- [13] 李雨繁, 李双, 赵文吉, 等. 不同来源甘松化学成分含量分析与抗氧化活性研究 [J]. *成都医学院学报*, 2023, 18(5): 545-548.
- [14] 巫明焱, 董光, 何兰, 等. 基于 GIS 的雅江县松茸适宜性分布研究 [J]. *北方园艺*, 2017(21): 197-205.
- [15] 崔琪. 甘松属的生物学特性及其遗传分析 [D]. 成都: 西南民族大学, 2023.
- [16] 陈虹宇, 陈允腾, 黄炳旭, 等. 不同海拔连翘根系土壤理化性质的变化 [J]. *北方园艺*, 2023(13): 69-76.
- [17] 孙海, 梁浩, 张亚玉. 药用植物根形态建成低磷响应策略及其分子机制 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(24): 6573-6580.
- [18] 双升普, 张金燕, 寸竹, 等. 光照强度驱动典型阴生植物三七的生理生态响应特征 [J]. *生态学报*, 2022, 42(9): 3596-3612.
- [19] NISHIMURA E, SUZAKI E, IRIE M, et al. Architecture and growth of an annual plant *Chenopodium album* in different light climates [J]. *Ecological Research*, 2010, 25(2): 383-393.
- [20] 郑梦娜, 贾傲, 陈之光, 等. 青藏高原矮火绒草 (*Leontopodium nanum*) 叶片性状对海拔高度变化的响应 [J]. *生态学报*, 2022, 42(24): 10305-10316.
- [21] TIWARI D, KEWLANI P, GAIRA K S, et al. Predicting phytochemical diversity of medicinal and aromatic plants (MAPs) across eco-climatic zones and elevation in Uttarakhand using Generalized Additive Model [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 10888.
- [22] 张际昭, 邱远金, 赵亚琴, 等. 新疆紫草根际环境与药材药效成分含量相关性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(22): 6030-6038.

(责任编辑: 和力新, 殷锋, 付强, 张阳, 肖丽; 英文编辑: 周序林, 郑玉才)