

小秦艽根部脂肪酸成分的主成分分析 及其与生态因子的相关性

孙菁, 王延花, 徐文华, 陈桂琛^①

(中国科学院西北高原生物研究所 青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室, 青海 西宁 810001)

摘要: 对采自青海 10 个居群的小秦艽 (*Gentiana dahurica* Fischer) 根部游离脂肪酸的组成及相对含量进行了测定, 并利用主成分分析方法对脂肪酸主成分的分布特征进行了研究并分析了脂肪酸主成分与生态因子的相关性。结果表明, 小秦艽根部含有 22 种游离脂肪酸, 部分脂肪酸成分的相对含量较高, 且高含量脂肪酸多为偶数高碳脂肪酸, 其中 C₁₆ 和 C₂₆ 脂肪酸的平均相对含量分别高达 42.102 和 74.029 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。主成分分析结果表明, 前 4 个主成分的累积贡献率达到 81.325%, 以偶数高碳脂肪酸成分的负荷量最大, 可基本反映小秦艽根部脂肪酸成分的分布特征。相关分析结果显示, 小秦艽根部脂肪酸含量具有地理分布差异, 第 1 主成分与日照时间显著负相关 ($P < 0.05$), 第 3 主成分与海拔高度显著正相关 ($P < 0.05$), 表明海拔越高、日照时间越短, 小秦艽根部脂肪酸含量越高, 揭示出小秦艽在高原生境条件下对逆境干旱环境的部分生理适应机制。

关键词: 小秦艽; 脂肪酸成分; 主成分分析; 生态因子; 相关性分析

中图分类号: Q948.11; Q547 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)02-0049-04

Analysis on principal component of fatty acids in *Gentiana dahurica* root and their correlation with ecological factors SUN Jing, WANG Yan-hua, XU Wen-hua, CHEN Gui-chen^① (Qinghai Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources, Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xi'ning 810001, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(2): 49-52

Abstract: The components and relative content of free fatty acids in *Gentiana dahurica* Fischer root from ten populations in Qinghai Province were determined, and the distribution characteristics of fatty acid principal components were studied by the principal component analysis, then the correlation of fatty acid principal components with ecological factors was analyzed. The results show that twenty-two free fatty acids are detected from *G. dahurica* root, and relative contents of some of those are higher. Most fatty acids with higher relative content are long-chain fatty acids with an even number of carbon atoms. The average relative content of C₁₆ and C₂₆ fatty acids is up to 42.102 and 74.029 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. The result of principal component analysis reflects the distribution characteristics of fatty acids in *G. dahurica* root. The cumulative contribution rate of the first four principal components is 81.325%, in which loadings of long-chain fatty acids with an even number of carbon atoms are bigger. The correlation analysis shows that there is geographical difference regarding fatty acid content in *G. dahurica* root. The first principal component has a significant negative correlation ($P < 0.05$) with the sunshine time, while the third principal component has a significant positive correlation ($P < 0.05$) with the altitude, that is, the higher the altitude and the longer the sunshine time, the higher the contents of fatty acids are, and partial anti-aridity physiological adaptation of *G. dahurica* in plateau environment is revealed.

Key words: *Gentiana dahurica* Fischer; fatty acids; principal component analysis; ecological factor; correlation analysis

收稿日期: 2008-11-11

基金项目: 国家中西部专项资助项目(2001BA901A47)

作者简介: 孙菁(1976—),女,山东淄博人,博士,助理研究员,主要研究方向为青藏高原及其毗邻地区药用植物资源化学。

^①通讯作者 E-mail: gcchen@nwipb.ac.cn

小秦艽 (*Gentiana dahurica* Fischer) 为龙胆科 (Gentianaceae) 龙胆属 (*Gentiana* L.) 多年生草本植物, 生于海拔 800 ~ 4 500 m 的草原阳坡、河谷阶地等生境中^[1], 为常用的传统中、藏药材, 以干燥根入药, 可用于治疗扁桃体炎、荨麻疹及风湿性关节炎等症^[2-3]。目前, 涉及小秦艽的研究较少^[4-6], 有关其脂肪酸组成及含量分析的研究尚未见报道。

为了探讨高原环境下小秦艽脂肪酸成分的变化特征, 作者采用荧光衍生法^[7]对采自青海 10 个居群的小秦艽根部的游离脂肪酸成分含量进行了快速测定, 并利用主成分分析法对小秦艽脂肪酸的分布特征进行了分析, 探讨了生态因子与小秦艽根部脂肪酸含量的相关规律, 以期对小秦艽化学成分研究及资源的进一步开发利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试小秦艽根于 2004 年 9 月分别采自青海的 10 个不同居群, 各居群的自然概况见表 1。每个居群内样株间距在 15 m 以上, 每个居群选择 20 ~ 30 株, 挖取根系并混匀后, 去除杂物尘土, 自然阴干, 粉碎并过 100 目筛。原植物标本经中国科学院西北高原生物研究所陈桂琛研究员鉴定。

实验所用仪器主要为 Agilent 公司生产的 Agilent 1100 型高效液相色谱 - 质谱联用仪。所用试剂主要为 1 - [2 - (对甲苯磺酸酯) 乙基] - 2 - 苯基咪唑 [4,5 - f] [9,10 - 菲 (TSPP)], 由山东曲阜师范

大学尤进茂教授提供; 30 种脂肪酸标准品均购自上海试剂厂; 所用乙腈 (ACN, 德国 Merck 公司) 为光谱纯级, 其他试剂均为分析纯级。

1.2 实验方法

参照文献[8]的方法配制 30 种脂肪酸的标准溶液并进行标准品的衍生, 小秦艽根部脂肪酸成分的提取方法和检测的色谱条件也参照文献[8]。采用大气压化学电离源 (APCI) 对脂肪酸成分进行在线的柱后质谱鉴定。脂肪酸含量测定时每次进样量 10 μL , 重复 3 次。

1.3 数据分析

采用峰面积归一化法计算小秦艽根部各脂肪酸成分的相对百分含量。利用 SPSS 11.0 统计软件, 以小秦艽根部脂肪酸成分的含量为变量进行主成分分析, 并对生态因子与脂肪酸含量进行相关性分析。

2 结果和分析

2.1 小秦艽根部脂肪酸成分的类型和含量

利用 TSPP 作为衍生试剂, 检测了小秦艽根部游离脂肪酸成分。结果表明, 小秦艽根部游离脂肪酸成分均达到了基线分离, 且分离效果较好。小秦艽根部脂肪酸组成较丰富, 共检测出 C_1 、 C_2 、 C_4 、 C_8 、 C_9 、 C_{10} 、 C_{12} 、 $C_{14} \sim C_{21}$ 、 $C_{23} \sim C_{28}$ 和 C_{30} 等 22 种脂肪酸, 而 C_3 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、 C_{11} 、 C_{13} 、 C_{22} 及 C_{29} 等 8 种脂肪酸未检出。部分脂肪酸成分的相对含量较高, 且多为偶数高碳脂肪酸, 如 C_{16} 、 C_{24} 、 C_{26} 和 C_{28} 等, 其中, C_{16} 和 C_{26} 的平均相对含量分别达 42.102 和 74.029 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 1 青海小秦艽居群的自然概况

Table 1 Natural status of populations of *Gentiana dahurica* Fischer in Qinghai Province

居群号 No. of population	采集地 Location	海拔/m Altitude	经度/(°) Longitude	纬度/(°) Latitude	温度/°C Temperature	降水量/mm Precipitation	日照时间/h Sunshine time	土壤 pH 值 pH value in soil	生境类型 ¹⁾ Habitat type ¹⁾
1	刚察 Gangcha	3 220	E100.242	N37.256	0.20	18.10	256.70	9.51	ACS
2	海晏 Haiyan	3 020	E101.041	N37.860	1.30	23.10	213.70	8.46	HAS
3	海晏 Haiyan	3 020	E101.003	N36.874	1.10	24.60	222.20	8.65	HAS
4	平安 Ping'an	2 610	E101.950	N36.383	7.10	23.70	220.60	8.89	ACS
5	都兰 Dulan	3 160	E97.967	N36.067	3.40	25.30	235.50	8.96	AS
6	同仁 Tongren	2 840	E102.175	N35.657	6.40	20.10	209.10	8.50	HAS
7	湟中 Huangzhong	2 700	E101.683	N36.250	4.10	33.60	189.90	8.48	AS
8	湟中 Huangzhong	2 810	E101.536	N36.431	4.10	33.60	189.90	8.21	AG
9	贵德 Guide	3 260	E101.133	N35.900	7.40	19.90	216.60	8.52	AS
10	兴海 Xinghai	3 510	E99.850	N35.883	1.40	28.10	218.20	8.61	S

¹⁾ ACS: 高寒草地 Alpine grassland; HAS: 干旱草原山坡 Hillside in arid steppe; AS: 干旱草原 Arid steppe; AG: 干旱草地 Arid grassland; S: 草原 Steppe.

2.2 小秦艽根部脂肪酸成分的主成分分析

对小秦艽根部脂肪酸成分进行主成分分析, 结果见表 2 和表 3。以累积贡献率的 80% 为阈值, 前 4 个主成分的累积贡献率达到 81.325%。其中, 第 1 主成分的贡献率最大, 达到 38.440%, 正向负荷量较大的脂肪酸成分是 C₂₄、C₂₅、C₂₆、C₂₇、C₂₈ 和 C₃₀, 负荷量均在 0.900 以上; 第 2 主成分的贡献率次之, 为 20.635%, 以 C₁₈ 和 C₂₀ 脂肪酸的正向负荷量较大, 负荷量分别为 0.950 和 0.889, 可用来反映第 2 主成分

表 2 青海不同居群小秦艽根部脂肪酸成分的主成分分析结果
Table 2 Result of principal component analysis of fatty acids in *Gentiana dahurica* Fischer root from different populations in Qinghai Province

主成分 Principal component	特征值 Eigen-value	贡献率/% Contribution rate	累积贡献率/% Cumulative contribution rate
第 1 First	8.457	38.440	38.440
第 2 Second	4.540	20.635	59.075
第 3 Third	2.578	11.720	70.795
第 4 Fourth	2.317	10.530	81.325

表 3 青海不同居群小秦艽根部各脂肪酸成分在不同主成分中的负荷量

Table 3 Loadings of different fatty acids in *Gentiana dahurica* Fischer root from different populations in Qinghai Province in different principal components

脂肪酸成分 Fatty acid	在不同主成分中的负荷量 Loading in different principal components				脂肪酸成分 Fatty acid	在不同主成分中的负荷量 Loading in different principal components			
	第 1 First	第 2 Second	第 3 Third	第 4 Fourth		第 1 First	第 2 Second	第 3 Third	第 4 Fourth
C ₁	0.180	0.145	-0.905	0.056	C ₁₈	-0.022	0.950	-0.046	0.221
C ₂	0.037	-0.316	-0.736	0.234	C ₁₉	0.459	0.699	0.457	-0.265
C ₄	-0.340	-0.307	-0.331	-0.305	C ₂₀	0.163	0.889	0.294	-0.186
C ₈	-0.182	0.744	0.108	-0.126	C ₂₁	0.119	0.455	0.455	-0.637
C ₉	0.772	0.336	-0.111	-0.005	C ₂₃	-0.074	0.731	-0.425	0.202
C ₁₀	0.227	-0.057	-0.036	0.951	C ₂₄	0.900	0.109	0.171	0.200
C ₁₂	0.132	0.051	0.189	0.211	C ₂₅	0.959	0.182	0.064	0.056
C ₁₄	0.626	-0.022	-0.134	0.407	C ₂₆	0.979	0.003	0.024	0.092
C ₁₅	0.064	0.113	0.846	0.298	C ₂₇	0.990	-0.026	-0.035	0.085
C ₁₆	0.632	0.458	0.308	0.379	C ₂₈	0.972	-0.135	-0.026	0.085
C ₁₇	0.427	0.323	0.183	0.779	C ₃₀	0.962	-0.088	-0.121	0.059

表 4 青海小秦艽根部脂肪酸的主成分与生态因子的相关性分析¹⁾

Table 4 Correlation analysis of principal components of fatty acids in *Gentiana dahurica* Fischer root with ecological factors in Qinghai Province¹⁾

主成分 Principal component	相关系数 Correlation coefficient						
	海拔 Altitude	经度 Longitude	纬度 Latitude	温度 Temperature	降水量 Precipitation	日照时间 Sunshine time	土壤 pH 值 pH value in soil
第 1 First	-0.608	0.531	-0.389	0.377	0.507	-0.711 *	-0.522
第 2 Second	0.237	-0.080	-0.208	-0.251	0.496	-0.228	-0.284
第 3 Third	0.638 *	-0.247	-0.581	0.149	-0.276	0.056	-0.119
第 4 Fourth	-0.041	0.100	-0.309	0.377	0.283	-0.395	-0.449

¹⁾ * : P < 0.05.

所代表的脂肪酸信息; 第 3 主成分的贡献率较小 (11.720%), 以 C₁ 脂肪酸的负向负荷量 (-0.905) 最大; 第 4 主成分的贡献率最小, 仅为 10.530%, 以 C₁₀ 脂肪酸的正向负荷量 (0.951) 最大。在上述 4 个主成分中, 偶数高碳脂肪酸成分的负荷量最大, 与脂肪酸成分含量的测定结果较一致。

2.3 小秦艽根部脂肪酸主成分与生态因子的相关性分析

对小秦艽根部脂肪酸 4 个主成分与生态因子的相关性进行分析, 结果见表 4。由表 4 可见, 4 个主成分均与纬度和土壤 pH 值呈负相关关系, 而其他生态因子的相关性各异。差异显著性分析结果表明, 第 1 主成分与日照时间具有显著的负相关关系 (P < 0.05), 第 3 主成分与海拔具有显著的正相关关系 (P < 0.05), 第 2 和第 4 主成分与各生态因子的相关性均未达到显著水平。由此推断, 海拔越高, 小秦艽根部脂肪酸含量就越高; 日照时间越长, 小秦艽根

部的脂肪酸含量则越低。

3 讨 论

脂肪酸是生物体的基本组成成分之一,既是细胞膜脂的主要成分,又是重要的能源物质,还是一些信号分子的前体,在植物的抗寒性、抗旱性、抗病性及食用和工业应用等方面具有重要作用^[9]。本研究结果表明,作为药用部位,小秦艽的根部含有22种脂肪酸成分,各脂肪酸成分的相对含量丰富,且多集中于偶数高碳脂肪酸上,但与沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)等植物的脂肪酸含量^[10]相比,小秦艽根部脂肪酸含量较低,其药理活性尚需进一步的实验验证。主成分分析结果表明,前4个主成分因子均以偶数高碳脂肪酸的负荷量较大,这与脂肪酸成分含量的测定结果基本一致,因此,前4个主成分可基本描述小秦艽药材脂肪酸成分的信息特征。

生态环境是影响药用植物化学成分的重要因素之一^[11]。受特定生境条件的影响,植物发生变异的最初特征是提高或降低某种化学成分的含量^[12]。在高原环境条件下,生物体内的化学成分更容易受诸多环境因素如海拔、温度、降水、辐射强度、季节变化等的影响^[13]。从动态发展的角度看,植物体内化学成分与环境的关系就是植物次生代谢产物对环境适应与进化的过程^[14-15]。不同居群小秦艽根部同一脂肪酸成分含量不同,表现出地理分布差异,这些小秦艽居群均分布于青藏高原海拔2600 m以上的区域,地理变化幅度较大,从东部的农业区(平安)一直延伸到南部的牧区(兴海),经受着高寒低温、缺氧、干旱和强烈的太阳辐射等逆境因子的胁迫,生长和繁殖状况欠佳。有研究报道,植物体内脂肪酸比例的升高有助于植物抗旱^[16]。在青藏高原上,随着海拔的升高,小秦艽的生长环境趋于恶劣,根中脂肪酸含量的增加对其抵御逆境及增强抗逆性具有一定的积极作用,反映出该种类在极端逆境干旱条件下的部分生理适应性。

致谢:在实验过程中得到了赵先恩等同学的热诚帮助,特此致谢!

参考文献:

- [1] Ho T N, Liu S W. A Worldwide Monograph of *Gentiana* [M]. Beijing: Science Press, 2001: 174-175.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 210-211.
- [3] 杨永昌. 藏药志 [M]. 青海: 青海人民出版社, 1991: 11.
- [4] 姬可平, 张西玲, 刘丽莎, 等. 小秦艽 rRNA 基因内转录间隔区测序鉴定的初步研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(4): 313-316.
- [5] 倪 慧, 波拉提·马卡比力, 卿德刚, 等. 新疆产 5 种秦艽植株不同部位龙胆苦苷含量的薄层扫描法测定 [J]. 中药材, 2004, 27(7): 500-501.
- [6] 杨 婕, 马 骥, 周东星, 等. 达乌里秦艽化学成分的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 187-189.
- [7] 赵先恩, 孙 菁, 索有瑞, 等. 柱前衍生-反相高效液相色谱荧光测定及质谱鉴定土壤和苔藓中的脂肪酸 [J]. 分析测试学报, 2006, 25(5): 1-6.
- [8] Sun J, Chen G C, Zhao X E, et al. Determination of 30 free fatty acids in two famous Tibetan medicines by HPLC with fluorescence detection and mass spectrometric identification [J]. Chromatographia, 2007, 65(7/8): 469-476.
- [9] 卢善发. 植物脂肪酸的生物合成与基因工程 [J]. 植物学通报, 2000, 17(6): 481-491.
- [10] Singh V, Gupta R K, Tandon S, 等. 几种沙棘果实与种子中脂肪酸成分分析 [J]. 国际沙棘研究与开发, 2004, 2(3): 1-8.
- [11] 陶曙红, 吴凤镔. 生态环境对药用植物有效成分的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15: 174-177.
- [12] 喻 梅, 高 琼. 锡林河流域植物化学成分与植物类群及其生境关系的定量分析 [J]. 植物生态学报, 1999, 23(4): 327-335.
- [13] 鲁守平, 隋新霞, 孙 群, 等. 药用植物次生代谢的生物学作用及生态环境因子的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18: 1027-1032.
- [14] Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective [J]. Phytochemistry, 2003, 64(1): 3-19.
- [15] Kutchan T, Dixon R A. Secondary metabolism: nature's chemical reservoir under deconvolution [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2005, 8(3): 227-229.
- [16] 何开跃, 李晓储, 黄利斌, 等. 干旱胁迫对木兰科 5 树种生理生化指标的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2004, 13(4): 20-23.