

枇杷种质花中黄酮含量分析与评价

姜帆^{1,2}, 周丹蓉², 高慧颖³, 陈秀萍^{1,2}, 郑少泉^{1,2}

(¹福建省龙眼枇杷育种工程技术研究中心, 福州 350013; ²福建省农业科学院果树研究所, 福州 350013;

³福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福州 350003)

摘要: 黄酮是枇杷花主要功效成分之一, 具有显著的消炎止咳作用。本试验从国家果树种质福州枇杷圃中筛选国内外代表性枇杷种质 55 份, 分析评价了其花中黄酮含量的差异及分级指标。研究结果显示, 不同枇杷种质之间黄酮含量差异明显, 分布范围为 0.44% ~ 2.28%, 最高的卓南 1 号是最低者香钟 25 号的 5.18 倍; 来源于福建的枇杷种质与浙江的存在极显著差异 ($P < 0.01$), 与贵州、广西的存在显著差异 ($P < 0.05$); 初步筛选出超高黄酮含量枇杷优异种质 1 份, 初步建立了枇杷花黄酮分级指标, 为今后枇杷花研究和利用奠定基础。

关键词: 枇杷花; 种质资源; 黄酮; 评价

Analysis and Evaluation of Flavonoid Content in Flowers of Loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) Germplasm Resources

JIANG Fan^{1,2}, ZHOU Dan-rong², GAO Hui-ying³, CHEN Xiu-ping^{1,2}, ZHENG Shao-quan^{1,2}

(¹ Fujian Fruit Breeding Engineering Technology Research Center for Longan & Loquat, Fujian 350013;

² Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013;

³ Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003)

Abstract: Flavonoids, as one of the important functional components in loquat flower, play a significant role in anti-inflammation and relieving cough. In this study, the flower flavonoid contents were analyzed in 55 accessions of loquat germplasm from National Fruit Fuzhou Loquat Gene-pool. The result showed that the flavonoid contents among the germplasm were significantly different, ranged from 0.44% to 2.28%. The highest content (Zhuonan No. 1) was 5.18 times higher than the lowest one (Xiangzhong No. 25). The average flavonoid level of loquat germplasm from Fujian province was significant difference with that from Zhejiang province ($P < 0.01$), as well as Guizhou province and Guangxi Zhuang autonomous region ($P < 0.05$). One loquat germplasm of ultra-high flavonoid content was screened out in this study, which is a promising material for further research. Meanwhile, the classification index for loquat flower flavonoid content level was established, which provides a basis for further exploitation of loquat flower.

Key words: flower of loquat; germplasm resources; flavonoid; evaluation

我国是枇杷(*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.)的原产中心, 经过 2000 多年的演化发展形成了丰富的种质资源。枇杷作为我国南方的亚热带特色果树, 其花及花穗自古以来作为民间传统药食材料被广泛应用^[1-2]。《中华本草》记载显示枇杷花能疏风

止咳, 主治感冒咳嗽、鼻流清涕等^[3]。现代医学研究表明, 黄酮类物质是枇杷花消炎止咳的功效成分之一^[4-7]。因此研究枇杷种质资源花的黄酮含量及其变化规律, 对枇杷种质资源鉴定评价和共享利用具有重要意义。目前枇杷花中黄酮研究主要集中在

收稿日期: 2016-06-07 修回日期: 2016-06-30 网络出版日期: 2016-09-07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20160907.1421.004.html>

基金项目: 农业部农业科研杰出人才及其创新团队(2012-57); 枇杷种质资源保护项目(16RZZY-12); 国家科技基础条件平台(NICGR 2016-054)

第一作者研究方向为龙眼枇杷种质资源与品质生物技术。E-mail: jiangfan006@126.com

通信作者: 郑少泉, 从事龙眼枇杷种质资源、育种与品质生物技术。E-mail: zsq333555@163.com

提取工艺探讨和制备工艺优化等领域^[8-14],未见基于种质资源较系统的开展枇杷花中黄酮含量的分析与评价研究报道。本试验在前期建立响应面法优化枇杷花黄酮超声波提取工艺基础上^[8],从国家果树种质福州枇杷圃中选取 55 份代表性枇杷种质资源,结合疏花管理分析评价枇杷种质资源花中黄酮含量的差异,探讨枇杷花黄酮含量的分级标准,筛选高黄酮含量的枇杷特异种质资源,为黄酮类物质的利用以及高黄酮含量品种的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

从国家果树种质福州枇杷圃中选取枇杷 [*E. japonica* (Thunb.) Lindl.]、麻栗坡枇杷 (*E. malipoensis* K. C. Kuan) 2 种有代表性的 55 份枇杷种质资源,来源地有中国、日本、西班牙、美国、新西兰等 5 个国家,其中中国种质的来源地包括福建、广东、江苏、浙江、四川、贵州、广西、安徽、云南、江西、湖北等 11 个省市(区)(表 1)。种质类型包含主栽品种、地方品种、国外引种和野生资源等。花蕾期时结合疏花采集无病虫害的花穗 1 kg,自然晒干后粉碎备用。

1.2 试验方法

枇杷花黄酮的提取制备参照文献[8],含量测定采用分光光度计法。

1.3 数据分析

采用 Excel 软件进行数据统计分析和频次分析,DPS 软件进行差异显著性分析和聚类分析。

2 结果与分析

2.1 55 份枇杷种质资源花中黄酮含量的差异分析

试验对枇杷种质资源的花中黄酮含量进行测定,结果表明不同种质之间花的黄酮含量具有较丰富的多样性(表 1),54 份普通枇杷花的黄酮含量分布为 0.44%~2.28%,平均含量为 1.11%,变异系数为 27.71%。其中卓南 1 号的含量最高(2.28%),香钟 25 号的含量最低(0.44%),两者相差达到 4.18 倍。早钟 6 号、解放钟作为福建省主栽的早熟和晚熟良种,其花中黄酮含量分别为 0.77%、0.94%,均低于平均含量。大坡顶 2 号、大坡顶 3 号、布衣枇杷、贵州野生、麻栗坡枇杷等枇杷资源的花中黄酮含量普遍较高,均高于平均含量,其中麻栗坡枇杷的黄酮含量较高,为 1.52%,是普通枇杷平均含量的 1.37 倍。田中、茂木等国外资源枇杷花中黄酮含量则处于平均含量上下。

表 1 55 份枇杷种质资源花的黄酮含量

Table 1 Contents of flavonoid in 55 loquat flowers

编号 No.	种质资源 Germplasm	来源地 Origin	黄酮含量(%) Flavonoid content	编号 No.	种质资源 Germplasm	来源地 Origin	黄酮含量(%) Flavonoid content
1	贵妃	中国福建	1.03	22	碑林门 2 号	中国贵州	1.18
2	乌躬白	中国福建	0.96	23	埂坡黄花	中国贵州	1.10
3	白梨	中国福建	0.86	24	埂坡 2 号	中国贵州	1.12
4	解放钟	中国福建	0.94	25	丰都枇杷	中国贵州	1.45
5	早钟 6 号	中国福建	0.77	26	贵州野生	中国贵州	1.46
6	金火本	中国福建	0.72	27	卓南 1 号	中国广西	2.28
7	长红 3 号	中国福建	0.68	28	白瓢枇杷	中国广西	1.21
8	香钟 25 号	中国福建	0.44	29	柳州光荣本	中国广西	1.03
9	乌脐	中国广东	0.84	30	柳州茂木	中国广西	0.84
10	白糖种	中国广东	1.15	31	长柄扁核	中国安徽	1.56
11	照种	中国江苏	1.18	32	光荣种	中国安徽	1.26
12	浙江大红袍	中国江苏	1.21	33	皖泊	中国安徽	1.19
13	单边种	中国浙江	1.69	34	白花	中国安徽	0.60
14	夹脚	中国浙江	1.46	35	沙锅野生	中国云南	1.14
15	大叶杨敦	中国浙江	1.47	36	珠珞红砂	中国江西	0.88
16	白玉	中国浙江	0.88	37	华宝 3 号	中国湖北	0.99
17	龙泉	中国四川	1.57	38	长崎早生	日本	1.18
18	红灯笼	中国四川	1.02	39	田中	日本	1.18
19	大坡顶 2 号	中国贵州	1.35	40	豆枇杷	日本	1.12
20	大坡顶 3 号	中国贵州	1.36	41	楠	日本	1.04
21	布衣枇杷	中国贵州	1.45	42	茂木	日本	1.02

表 1 (续)

编号 No.	种质资源 Germplasm	来源地 Origin	黄酮含量 (%) Flavonoid content	编号 No.	种质资源 Germplasm	来源地 Origin	黄酮含量 (%) Flavonoid content
43	土肥	日本	1.05	50	先进	美国	0.88
44	西班牙 1 号	西班牙	0.74	51	黄金块	美国	0.78
45	西班牙 2 号	西班牙	1.12	52	新西兰红肉	新西兰	1.26
46	西班牙 5 号	西班牙	0.98	53	新西兰白肉	新西兰	0.94
47	西班牙 6 号	西班牙	1.15	54	新西兰黄肉	新西兰	0.90
48	西班牙 7 号	西班牙	0.87	55	麻栗坡枇杷	中国云南	1.52
49	香槟	美国	1.27		平均		1.11

分析表明 54 份普通枇杷花中黄酮含量的分布近似正态分布(图 1),其中黄酮含量分布在 0.98% ~

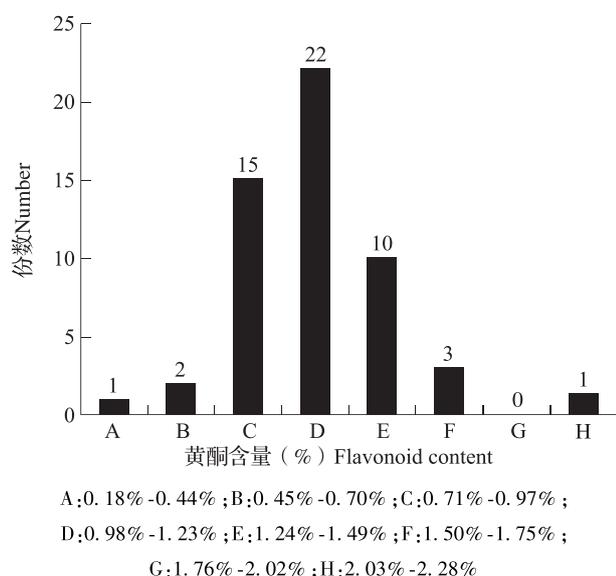


图 1 54 份普通枇杷花中黄酮含量的分布

Fig. 1 Distribution of flavonoid content in loquat flowers

1.23% 区间的种质较多,有 22 份,占 40.74%;其次是含量分布在 0.71% ~ 0.97%、1.24% ~ 1.49% 区间的种质,分别有 15 份、10 份,占 27.78%、18.52%。其他含量范围分布的种质较少,如含量分布在 1.50% ~ 1.75% 区间的种质有 3 份;0.45% ~ 0.70% 区间的种质有 2 份;0.18% ~ 0.44% 和 2.03% ~ 2.28% 区间的种质各有 1 份,也是黄酮含量最低和最高的 2 份种质。

2.2 不同来源地枇杷花黄酮含量的差异分析

分析表明不同来源地枇杷花中黄酮含量变化较大,其中中国广东、广西、江西等枇杷种质数量不足 3 份的未进行差异显著性分析(表 2)。来源于中国广西的枇杷花黄酮含量的变异系数最大,为 48.11%,日本的最小,仅为 6.53%。中国浙江、广西、云南、贵州、四川等枇杷花黄酮的平均含量较高,为 1.30% ~ 1.38%,含量最低的是中国福建,仅为 0.80%。方差分析显示,福建与浙江存在极显著差异($P < 0.01$),与贵州、广西存在显著差异($P < 0.05$),其他间差异则不显著。

表 2 不同来源地枇杷花黄酮含量的比较

Table 2 Comparison of flavonoid in loquat flowers among different origin

产地 Origin	份数 Number	含量 (%) Content	变异系数 (%) Variation coefficient	最大值 (%) Max.	最小值 (%) Min.
中国福建	8	0.80 ± 0.19cB	23.76	1.03	0.44
中国广东	2	1.00	/	1.15	0.84
中国江苏	2	1.20	/	1.21	1.18
中国浙江	4	1.38 ± 0.35aA	25.21	1.69	0.88
中国四川	2	1.30	/	1.57	1.02
中国贵州	8	1.31 ± 0.15abAB	11.66	1.46	1.10
中国广西	4	1.34 ± 0.64abAB	48.11	2.28	0.84
中国安徽	4	1.15 ± 0.40abcAB	34.86	1.56	0.60
中国云南	2	1.33	/	1.52	1.14
中国江西	1	0.88	/	/	/
中国湖北	1	0.99	/	/	/
日本	6	1.10 ± 0.07abcAB	6.53	1.18	1.02
西班牙	5	0.97 ± 0.17bcAB	17.66	1.15	0.74
美国	3	0.98 ± 0.26bcAB	26.51	1.27	0.78
新西兰	3	1.03 ± 0.20bcAB	19.10	1.26	0.90

2.3 聚类分析

以54份枇杷种质花的黄酮含量为基础,利用欧氏距离和类平均法(UPGMA)进行聚类分析,在距离为0.48处,可把供试枇杷资源分为4个类群(图2)。第I类只有香钟25号和白花等2份种质,其黄酮含量低于0.60%,为黄酮较低的类群。第II类群黄酮含量在0.61%~1.40%之间,包含有长红3号、金火本、西班牙1号等43份种质,是种质分布最多的类群,占供试资源的79.63%。第III类群黄酮含量介于1.41%~1.60%之间,有单边种、夹脚、贵州野生、大叶杨敦、布衣枇杷、丰都枇杷、长柄扁

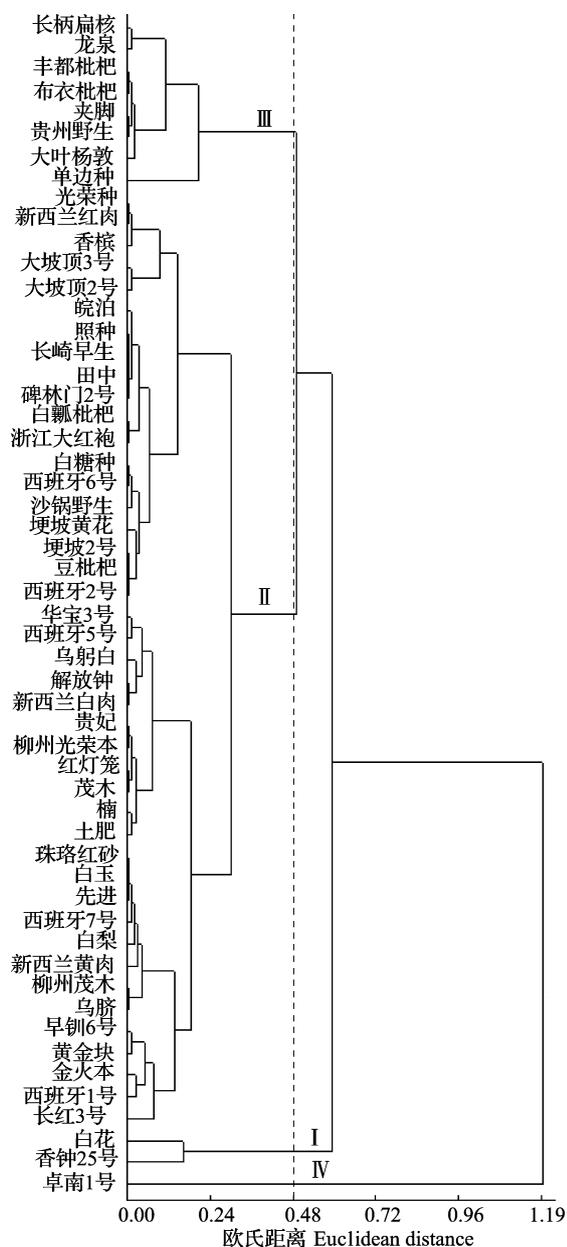


图2 54份枇杷花黄酮含量的聚类分析

Fig. 2 Clustering Analysis based on flavonoid content of 54 Loquat flowers

核、龙泉等8份种质。第IV类群中黄酮含量高于1.61%,仅有卓南1号1份种质,其黄酮含量为2.28%,属于高黄酮含量的枇杷优异种质。根据聚类分析结果可以初步确定枇杷种质中花的黄酮含量分级指标,即4个类群对应的黄酮含量分别为低、中、高、超高(表3),可以为今后枇杷花黄酮评价提供参考。

表3 基于黄酮含量的枇杷4个类群的种质资源

Table 3 Cluster result based on flavonoid contents in loquat flowers

黄酮含量 Flavonoid contents	份数 Number	种质名称 Germplasms
超高	1	卓南1号
高	8	单边种、夹脚、贵州野生、大叶杨敦、布衣枇杷、丰都枇杷、长柄扁核、龙泉
中	43	长红3号、金火本、西班牙1号、早钟6号、黄金块、乌脐、柳州茂木、白梨、西班牙7号、白玉、珠珞红砂、先进、新西兰黄肉、解放钟、新西兰白肉、乌躬白、西班牙5号、华宝3号、红灯笼、茂木、贵妃、柳州光荣本、楠、土肥、白糖种、埂坡黄花、埂坡2号、豆枇杷、西班牙2号、沙锅野生、西班牙6号、照种、碑林门2号、长崎早生、田中、皖泊、浙江大红袍、白瓢枇杷、光荣种、新西兰红肉、香槟、大坡顶3号、大坡顶2号
低	2	香钟25号、白花

3 讨论

本试验首次对国内外代表性枇杷种质资源花的黄酮含量进行较系统鉴定评价。结果表明,枇杷花的黄酮平均含量为1.11%,低于枇杷老叶,但明显高于枇杷嫩叶和枇杷果实^[15];与其他作物相比,其黄酮含量明显高于甜荞^[16],但明显低于苦荞^[16-17]。枇杷种质花中黄酮含量分布较为广泛,不同种质间差异明显,与枣中黄酮含量分布相似^[18]。枇杷种质资源花中的中低黄酮含量所占比例较多,但是也出现卓南1号等少量含量高的枇杷种质,说明通过扩大筛选规模有可能鉴定出黄酮含量更高的枇杷优异种质,为今后开展枇杷花黄酮组分研究以及育种应用等提供可能。

黄酮含量作为衡量枇杷花质量的标准之一,通常与产地、品种、栽培等多种因素有关^[4]。本研究供试枇杷种质中不同种质之间花的黄酮含量差异较大,最高的是最低者含量的 5.18 倍。我国 11 个不同来源地的枇杷种质花的黄酮含量也存在明显差异,浙江、四川、贵州、广西、云南等的含量较高,广东、江苏、安徽、湖北等的含量中等,江西和福建的含量较低,这与李琪等^[19]研究结果中不同来源地含量差异趋势不同,可能是由于采集样品的种质不一致有关,具体原因还有待于进一步分析。

依据聚类分析结果进行功效成分分级标准探讨在龙眼多糖^[20]、萝卜莱服子素^[21]、枇杷三帖酸^[22]等方面取得较好效果,本试验在聚类分析的基础上首次提出枇杷花黄酮的分级标准,即低于 0.60% 的为低黄酮含量种质,0.61% ~ 1.40% 的为中黄酮含量种质,1.41% ~ 1.60% 属于高黄酮含量种质,高于 1.61% 的为超高黄酮含量种质。基于建立的分级指标,初步筛选出花中黄酮含量高的枇杷种质 9 份,为今后在含量分析基础上解析枇杷花黄酮类化合物合成机制^[23-24]提供支持。

参考文献

- [1] 郑少泉. 枇杷品种与优质高效栽培技术原色图说[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 1
- [2] 闫永芳, 孙钧, 孟天真, 等. 枇杷花研究及开发进展[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12): 544-546, 551
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 4 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1999
- [4] 杨必坤. 枇杷花药材质量标准研究[D]. 成都: 四川师范大学, 2010
- [5] 王静波, 杨必坤, 张宏, 等. 枇杷花提取物止咳作用研究[J]. 中草药, 2009, 40(7): 1106-1109
- [6] 孙苏逊. 民间用药枇杷花的有效性评价研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2011
- [7] 周春华. 枇杷花、果主要生物活性组分与抗氧化活性研究[D]. 浙江: 浙江大学, 2007
- [8] 周丹蓉, 郑少泉, 蒋际谋. 响应面法优化枇杷花总黄酮超声波辅助提取工艺的研究[J]. 热带作物学报, 2012, 33(7): 1219-1224
- [9] 胡娟, 张宏, 刘刚, 等. 枇杷花总黄酮提取工艺的研究[J]. 中药材, 2008, 31(11): 1724-1727
- [10] 郭欣, 谢三都. 酶解结合超声波提取枇杷花黄酮类物质工艺优化[J]. 漳州职业技术学院学报, 2013, 15(3): 1-6
- [11] 谢田伟, 陈发河, 吴光斌. 响应面法优化枇杷花黄酮提取工艺研究[J]. 集美大学学报: 自然科学版, 2012, 17(5): 344-312
- [12] 丁然, 黎霞, 李琪, 等. 吸附树脂分离纯化枇杷花总黄酮的研究[J]. 离子交换与吸附, 2014, 30(6): 560-568
- [13] 吴绍康, 沈先荣, 梅威威, 等. 大孔吸附树脂分离纯化枇杷花总黄酮工艺研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(9): 2185-2188
- [14] 郑美瑜, 陆胜民, 陈剑兵, 等. 枇杷花总黄酮的提取工艺优化[J]. 食品与发酵科技, 2009, 45(4): 52-54
- [15] Jiang F, Zheng S Q, Gao H Y, et al. Polysaccharides and flavones in loquat cultivars [J]. Acta horticulturae. 2007, 750: 321-323
- [16] 李为喜, 朱志华, 李国营, 等. AlCl₃ 分光光度法测定荞麦种质资源中黄酮的研究[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(4): 502-505
- [17] 刘三才, 李为喜, 刘方, 等. 苦荞麦种质资源总黄酮和蛋白质含量的测定与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(3): 317-320
- [18] 赵爱玲, 李登科, 王永康, 等. 枣品种资源的营养特性评价与种质筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(6): 811-816
- [19] 李琪, 杨必坤, 张晓喻, 等. 枇杷花主要有效成分的含量[J]. 广西植物, 2009, 29(5): 698-702
- [20] 郑少泉, 郑金贵. 不同基因型龙眼果实中多糖含量的比较[J]. 果树学报, 2006, 23(2): 232-236
- [21] 华贝贝, 邱杨, 段韞丹, 等. 萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 种质莱服子素含量分析与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1038-1044
- [22] 姜帆, 高慧颖, 陈秀萍, 等. 枇杷花中三萜类物质的分析与评价[J]. 热带亚热带植物学报, 2016, 24(2): 233-240
- [23] 崔艳伟, 李喜焕, 李文龙, 等. 黄淮海大豆异黄酮含量分析与特异种质遴选[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 1167-1172
- [24] 崔艳伟, 李文龙, 常文锁, 等. 大豆异黄酮合成途径相关基因差异表达分析[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(4): 717-723
- [97] Nakamura S, Moriura T, Park S, et al. Melanogenesis-inhibitory and fibroblast proliferation accelerating effects of noroleanane- and oleanane-type triterpene oligoglycosides from the flower buds of *Camellia japonica* [J]. J Nat Prod, 2012, 75: 1425-1430
- [98] Onodera K, Tsuha K, Yasumoto-Hirose M, et al. Okicamelliaside, an extraordinarily potent anti-degranulation glucoside isolated from leaves of *Camellia japonica* [J]. Biosci Biotech Bioch, 2010, 74(12): 2532-2534
- [99] Kuba M, Tsuha K, Tsuha K, et al. In vivo analysis of the anti-allergic activities of *Camellia japonica* extract and okicamelliaside, a degranulation inhibitor [J]. J Health Sci, 2008, 54(5): 584-588
- [100] Kuba-Miyara M, Agarie K, Sakima R, et al. Inhibitory effects of an ellagic acid glucoside, okicamelliaside, on antigen-mediated degranulation in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2012, 12: 675-681
- [101] Kobayashi R, Hanaya K, Shoji M, et al. Synthesis of okicamelliaside, a glucoside of ellagic acid with potent anti-degranulation activity [J]. Biosci Biotech Bioch, 2013, 77(4): 810-813
- [102] 唐玲, 冯宝民, 史丽颖, 等. 山茶属植物的抗骨质疏松作用[J]. 中药材, 2008, 31(10): 1540-1544
- [103] Jeong C H, Kim J H, Choi G N, et al. Protective effects of extract with phenolics from *camellia* (*Camellia japonica*) leaf against oxidative stress-induced neurotoxicity [J]. Food Sci Biotechnol, 2010, 19(5): 1347-1353

(上接第 1030 页)