

枇杷花中三萜类物质的分析与评价

姜帆^{1,2}, 高慧颖³, 陈秀萍^{1,2}, 郑少泉^{1,4*}

(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; 4. 福建省农业科学院, 福州 350003)

摘要: 为评价枇杷[*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.]花中三萜类物质的组成特点, 采用HPLC法对53份代表性枇杷种质花中的科罗索酸、熊果酸和齐墩果酸的含量进行了测定。结果表明, 枇杷花中3种三萜类物质含量平均为0.439%, 其中科罗索酸、熊果酸和齐墩果酸分别占19.1%、65.6%和15.3%。不同枇杷种质资源中三萜类物质含量存在丰富多样性, 以科罗索酸含量的变异系数最大(29.34%), 齐墩果酸含量差异最大(最高和最低分别相差6.7倍)。来源于广东的枇杷花中科罗索酸和齐墩果酸含量变异最大, 而来源于云南的枇杷花熊果酸含量变异最大。根据枇杷种质资源花中三萜类物质含量聚类分析, 提出了高、中、低分级指标。在8个主栽枇杷良种中贵妃和长红3号花中三萜类物质含量处于高含量区位。因此, 经综合筛选, 三萜类物质含量高的枇杷种质有3份: 贵妃、香钟1号和长红3号。

关键词: 枇杷; 花; 种质资源; 科罗索酸; 熊果酸; 齐墩果酸; 评价

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.02.016

Analysis and Evaluation of Triterpenoids in Loquat Flowers

JIANG Fan^{1,2}, GAO Hui-ying³, CHEN Xiu-ping^{1,2}, ZHENG Shao-quan^{1,4*}

(1. Fujian Fruit Breeding Engineering Technology Research Center for Lungan & Loquat, Fuzhou 350013, China; 2. Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350013, China; 3. Institute of Agricultural Engineering Technology, Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003, China; 4. Fujian Academy of Agricultural Science, Fuzhou 350003, China)

Abstract: To evaluate the diversity of triterpenoid in flowers of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., the contents of corosolic acid, ursolic acid and oleanic acid were determined by HPLC from 53 loquat germplasms. The result showed that the average contents of 3 triterpenoid compounds were 0.439% in loquat flowers, with the contents of corosolic acid, ursolic acid and oleanic acid accounting for 19.1%, 65.6% and 15.3%, respectively. The variation coefficient of corosolic acid was the greatest with 29.34%, whereas the difference in oleanic acid content was the biggest. Based on the origin, the highest variations coefficient in corosolic acid contents and oleanic acid contents were 32.56% and 34.00% from Guangdong Province, respectively, whereas that of ursolic acid was 35.01% from Yunnan province. Based on cluster analysis, the classification index was built at high, middle and low levels. The triterpenoid contents in 2 major loquat germplasms (Guifei and Changhong No. 3) were at high level. Therefore, three loquat germplasms (Guifei, Xiangzhong No. 1 and Changhong No. 3) were selected for high contents of three triterpenoids.

Key words: *Eriobotrya japonica*; Flower; Germplasm resource; Corosolic acid; Ursolic acid; Oleanolic acid; Evaluation

收稿日期: 2015-07-16 接受日期: 2015-09-06

基金项目: 农业部科研杰出人才计划及其创新团队项目(2012-2015); 农业部物种资源保护项目(农作物)(2015NWB008); 农业部热带作物种质资源保护项目(14RZZY-15); 福建省农业科学院青年基金与科技创新项目(2014QA-2)资助

This work was supported by the Research and Innovation Team Project of the Ministry of Agriculture (Grant No. 2012-2015), the Protection of Crops Germplasm Resources in the Ministry of Agriculture (Grant No. 2015NWB008), the Protection of Tropical Crops Germplasm Resources in the Ministry of Agriculture (14RZZY-15), and the Program of Youth Foundation & Sci-technology Innovation in Fujian Academy of Agricultural Science (2014QA-2).

作者简介: 姜帆, 男, 硕士, 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 Corresponding author. E-mail: zsq333555@163.com

我国是枇杷[*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.]的重要起源演化中心之一,在2000多年栽培历史中形成了丰富的品种资源。枇杷作为传统的药食兼用资源,花、果、叶、根等均可入药^[1],花主治头风、鼻涕清流。枇杷花期长、花量大,我国每年约有 6.0×10^5 t枇杷花资源,但生产中95%以上缺乏有效利用而废弃。已有的研究表明,三萜类物质是枇杷花主要的药效成分之一^[2],在化痰止咳^[3]、抗氧化^[4]等方面具有显著效果。目前,枇杷花中三萜类物质研究以熊果酸和齐墩果酸含量检测为主^[5-8],仅对少量品种进行了含量差异分析^[4],缺乏系统的枇杷种质资源的鉴定评价。科罗素酸作为重要的三萜类物质,是一种天然降血糖功能因子^[9],尚未见枇杷花科罗素酸的研究报道。因此,本研究从国家果树种质福州枇杷圃筛选代表性枇杷种质,分析评价花中科罗素酸、熊果酸、齐墩果酸3种三萜类物质含量在枇杷种质资源中的分布规律,旨在丰富枇杷种质资源花中功效成分的鉴定评价,为枇杷高功效成分品种选育及三萜类物质的利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

从国家果树种质福州枇杷圃中筛选枇杷[*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.]、栎叶枇杷(*E. prinoides* Rehder & E. H. Wilson)和麻栗坡枇杷(*E. malipoensis* Kuan)共53份代表性种质(表1),来源地分别为中国、日本、美国、西班牙、越南等5国,中国种质来源于福建、广东、广西、云南、贵州、浙江、江苏、四川、安徽、重庆、江西等省市(区);种质类型分为主栽品种、地方资源、野生资源等。所有枇杷栽培条件一致,在盛花期结合疏花采集无病虫害花穗各1 kg,烘干至恒重,4℃密封保存待用。

1.2 科罗素酸、熊果酸、齐墩果酸的提取和测定

将干燥的枇杷花粉碎,过80目筛,精确称取2.000 g枇杷花粉末,用甲醇浸泡2 h后超声波提取20 min,静置放冷1 h,收集上清液,定容至50 mL,过0.45 μm 微孔滤膜后上液相。

采用外标法测定,在Zhou等^[4]方法的基础上对流动相比例进行优化,分离出3种三萜类物质。齐墩果酸、熊果酸和科罗素酸标准品购自成都普瑞法科技有限公司;色谱柱: Shim-pack VP-ODS C_{18} (4.6 m $\times$

250 mm, 5 μm),流动相: 甲醇:乙腈:4%磷酸的体积比为60:29.5:10.5,检测波长205 nm,柱温30℃,流速为1.0 mL min⁻¹,进样量10 μL 。每份枇杷种质重复3次。

1.3 数据分析

所有数据采用Excel 2010和DPS软件进行处理,用DPS软件进行差异显著性分析和聚类分析。

2 结果和分析

2.1 三萜类物质的含量

利用HPLC流动相可从53份枇杷种质资源花中均分离出熊果酸、齐墩果酸和科罗素酸等三萜类物质(表1)。结果表明,51份枇杷花中的3种三萜类物质含量平均为0.439%,其中,科罗素酸平均含量为0.084%,高于麻栗坡枇杷(0.073%)而低于栎叶枇杷(0.103%);熊果酸含量平均为0.288%,均低于栎叶枇杷(0.349%)和麻栗坡枇杷(0.488%);齐墩果酸平均含量为0.067%,同样均低于栎叶枇杷(0.075%)和麻栗坡枇杷(0.089%)。

可见,枇杷种质资源花的3种三萜类物质中熊果酸含量最高,科罗素酸含量次之,齐墩果酸含量最低,分别占65.6%、19.1%和15.3%,这与栎叶枇杷相似,而与麻栗坡枇杷不同(科罗素酸含量最低)。

2.2 三萜类物质含量的多样性

2.2.1 科罗素酸含量

本研究首次从枇杷花中检测到了科罗素酸(表1)。51份枇杷花中科罗素酸含量为0.042% (卷叶枇杷)~0.156% (茂木),平均值为0.084%,变异系数为29.34%,含量最高者是最低者的3.7倍。从图1来看,科罗素酸含量较低的种质有1份,为卷叶枇杷;含量为0.059%~0.0975%、0.075%~0.091%、0.091%~0.107%的种质份数相近,分别为14份、13份、10份,共占总份数的72.55%;含量较高的种质有2份,是港口8号和茂木。

不同来源地枇杷种质花的科罗素酸含量有明显差异(表2),来源广东的科罗素酸变异系数最大(32.56%),广西的最小(6.02%)。来源日本的平均含量最高,为0.119%,变异系数为21.35%,除与广东的差异不显著外,与其他来源地的均达显著差异($P < 0.05$)。中国种质以来源广东的平均含量最高,

表1 枇杷花中的科罗索酸、熊果酸、齐墩果酸含量

Table 1 Contents of corosolic acid, ursolic acid and oleanolic acid in loquat flowers

	种质 Germplasm	来源地 Origin	科罗索酸 (%) Corosolic acid	熊果酸 (%) Ursolic acid	齐墩果酸 (%) Oleanolic acid	合计 Total (%)
枇杷 <i>Eriobotrya japonica</i>	早钟 6 号 Zaozhong No. 6	福建 Fujian	0.091±0.004	0.319±0.021	0.071±0.004	0.481
	解放钟 Jiefangzhong	福建 Fujian	0.093±0.012	0.284±0.022	0.073±0.005	0.451
	长红 3 号 Changhong No. 3	福建 Fujian	0.113±0.001	0.384±0.013	0.094±0.011	0.592
	钟香 25 号 Zhongxiang No. 25	福建 Fujian	0.107±0.036	0.253±0.039	0.052±0.012	0.412
	贵妃 Guifei	福建 Fujian	0.108±0.009	0.355±0.013	0.083±0.009	0.546
	新白 6 号 Xinbai No. 6	福建 Fujian	0.079±0.012	0.310±0.013	0.064±0.002	0.454
	太城 4 号 Taicheng No. 4	福建 Fujian	0.078±0.006	0.311±0.029	0.086±0.024	0.475
	乌躬白 Wugongbai	福建 Fujian	0.069±0.021	0.305±0.014	0.064±0.002	0.438
	东湖早 Donghuzao	福建 Fujian	0.092±0.003	0.465±0.005	0.077±0.004	0.634
	香甜 Xiangtian	福建 Fujian	0.096±0.008	0.274±0.040	0.048±0.003	0.418
	闽矮 1 号 Min'ai No. 1	福建 Fujian	0.125±0.007	0.324±0.017	0.075±0.007	0.525
	闽三号 Min 3 hao	福建 Fujian	0.066±0.017	0.212±0.007	0.039±0.006	0.317
	多 12 号 Duo No. 12	福建 Fujian	0.063±0.009	0.260±0.018	0.061±0.005	0.383
	多 43 号 Duo No. 43	福建 Fujian	0.097±0.008	0.278±0.013	0.055±0.005	0.431
	多 6 号 Duo No. 6	福建 Fujian	0.073±0.014	0.275±0.013	0.067±0.010	0.415
	香钟 1 号 Xiangzhong No. 1	福建 Fujian	0.105±0.035	0.368±0.012	0.118±0.022	0.592
	白糖种 Baitangzhong	广东 Guangdong	0.067±0.015	0.214±0.012	0.042±0.002	0.323
	大乌脐 Dawuji	广东 Guangdong	0.088±0.014	0.232±0.017	0.055±0.012	0.375
	港口 8 号 Gangkou No. 8	广东 Guangdong	0.152±0.021	0.325±0.035	0.104±0.031	0.581
	多宝 2 号 Duobao No. 2	广东 Guangdong	0.087±0.016	0.283±0.015	0.071±0.008	0.442
	白玉 Baiyu	江苏 Jiangsu	0.077±0.006	0.273±0.014	0.060±0.007	0.410
	冰糖种 Bingtangzhong	江苏 Jiangsu	0.066±0.006	0.276±0.014	0.061±0.007	0.404
	冠玉 Guanyu	江苏 Jiangsu	0.067±0.003	0.299±0.012	0.070±0.011	0.436
	宁海白 Ninghaibai	浙江 Zhejiang	0.072±0.005	0.306±0.016	0.070±0.003	0.448
	软条白沙 Ruantiaobaisha	浙江 Zhejiang	0.070±0.011	0.330±0.009	0.069±0.010	0.469
	大红袍 Dahongpao	浙江 Zhejiang	0.115±0.021	0.355±0.018	0.074±0.007	0.544
	实生杨墩 Shishengyangdun	浙江 Zhejiang	0.057±0.009	0.332±0.013	0.072±0.006	0.461
	大五星 Dawuxing	四川 Sichuan	0.097±0.021	0.372±0.015	0.096±0.008	0.565
	兴安白肉 Xing'an bairou	云南 Yunnan	0.069±0.011	0.305±0.020	0.057±0.010	0.431
	卷叶枇杷 Juanyepipa	云南 Yunnan	0.042±0.004	0.303±0.016	0.065±0.006	0.410
	砂锅酸 Shaguosuan	云南 Yunnan	0.054±0.006	0.123±0.015	0.028±0.003	0.205
	埂坡枇杷 Gengpopipa	贵州 Guizhou	0.049±0.003	0.182±0.008	0.038±0.005	0.269
	贵州野生 Guizhouyesheng	贵州 Guizhou	0.056±0.001	0.223±0.009	0.050±0.009	0.328
	酸枇杷 Suanpipa	贵州 Guizhou	0.068±0.008	0.195±0.010	0.048±0.005	0.311
	龙门 1 号 Longmen No. 1	广西 Guangxi	0.077±0.002	0.259±0.004	0.063±0.003	0.399
	荔枝枇杷 Lizhipipa	广西 Guangxi	0.067±0.003	0.193±0.010	0.057±0.010	0.317
	小毛枇杷 Xiaomaopipa	广西 Guangxi	0.076±0.002	0.254±0.014	0.053±0.004	0.383
	长柄扁核 Changbingbianhe	安徽 Anhui	0.064±0.006	0.282±0.005	0.059±0.005	0.406
	短柄扁核 Duanbingbianhe	安徽 Anhui	0.102±0.002	0.336±0.043	0.093±0.018	0.530
	皖泊 Wanbo	安徽 Anhui	0.085±0.012	0.278±0.005	0.072±0.009	0.435
	杨梅洲 4 号 Yangmeizhou No. 4	江西 Jiangxi	0.080±0.010	0.298±0.007	0.072±0.005	0.450
	丰都枇杷 Fengdupipa	重庆 Chongqing	0.091±0.008	0.350±0.009	0.086±0.008	0.527
	田中 Tanaka	日本 Japan	0.097±0.009	0.276±0.015	0.066±0.004	0.439
	茂木 Mogi	日本 Japan	0.156±0.002	0.325±0.007	0.069±0.005	0.550
	豆枇杷 Doupipa	日本 Japan	0.127±0.011	0.294±0.013	0.061±0.006	0.482
	森尾早生 Moriowase	日本 Japan	0.094±0.004	0.280±0.168	0.095±0.006	0.469
	西班牙 1 号 Spain No. 1	西班牙 Spain	0.051±0.011	0.198±0.009	0.055±0.010	0.303
	西班牙 2 号 Spain No. 2	西班牙 Spain	0.072±0.006	0.254±0.018	0.055±0.004	0.381
	先进 Advance	美国 America	0.085±0.005	0.370±0.011	0.083±0.004	0.538
	香槟 Champagne	美国 America	0.090±0.001	0.291±0.003	0.067±0.005	0.449
	友弄 1 号 Younong No. 1	越南 Vietnam	0.046±0.002	0.246±0.007	0.049±0.002	0.341
平均 Mean			0.084	0.288	0.067	0.439
栎叶枇杷 <i>E. prinoidea</i>		四川 Sichuan	0.103±0.013	0.349±0.016	0.075±0.004	0.526
麻栗坡枇杷 <i>E. malipoensis</i>		云南 Yunnan	0.073±0.002	0.488±0.026	0.089±0.010	0.650

为0.099%,但广东、福建、江苏、浙江、广西、安徽的差异不显著;云南的最低,为0.055%,变异系数为19.82%,与含量较高的日本、广东、福建等的差异显著($P<0.05$)。

2.2.2 熊果酸含量

与科罗索酸和齐墩果酸相比,枇杷种质资源花中熊果酸比重最高(表1)。51份枇杷花中熊果酸平均含量为0.288%,变异系数为20.74%。熊果酸最高含

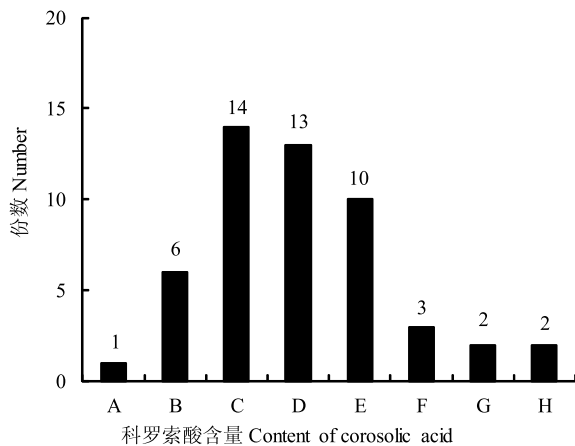


图1 枇杷花中科罗索酸含量的分布。A: 0~0.042%; B: 0.042%~0.059%; C: 0.059%~0.075%; D: 0.075%~0.091%; E: 0.091%~0.107%; F: 0.107%~0.124%; G: 0.124%~0.140%; H: 0.140%~0.156%。

Fig. 1 Distribution of corosolic acid content in loquat flowers. A: 0~0.042%; B: 0.042%~0.059%; C: 0.059%~0.075%; D: 0.075%~0.091%; E: 0.091%~0.107%; F: 0.107%~0.124%; G: 0.124%~0.140%; H: 0.140%~0.156%。

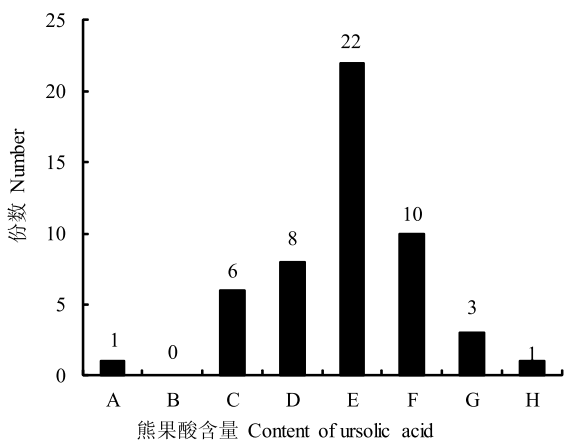


图2 枇杷花中熊果酸含量的分布。A: 0~0.123%; B: 0.123%~0.172%; C: 0.172%~0.221%; D: 0.221%~0.270%; E: 0.270%~0.319%; F: 0.319%~0.368%; G: 0.368%~0.416%; H: 0.416%~0.465%。

Fig. 2 Distribution of ursolic acid content in loquat flowers. A: 0~0.123%; B: 0.123%~0.172%; C: 0.172%~0.221%; D: 0.221%~0.270%; E: 0.270%~0.319%; F: 0.319%~0.368%; G: 0.368%~0.416%; H: 0.416%~0.465%。

量(东湖早, 0.465%)是最低(砂锅酸, 0.123%)的3.8倍。从图2可见,熊果酸含量为0.270%~0.319%的种质有22份,占43.13%;含量为0.319%~0.368%、0.221%~0.270%和0.172%~0.221%的分别有10份、8份、6份;含量为0.368%~0.416%的有3份;含量为0~0.123%和0.416%~0.465%的各只有1份,也是熊果酸含量最低和最高的2份种质。

从来源地分布来看,来源于云南的枇杷花熊果酸含量变异最大(35.01%),江苏的最小(4.10%)。四川和重庆的枇杷花熊果酸平均含量较高,分别为0.372%、0.350%,其次为浙江和美国的,含量均为0.331%,含量最低的是贵州,仅为0.200%。不同来源地的枇杷花熊果酸含量差异不明显,仅浙江与广西、贵州、广东、云南达差异显著水平($P<0.05$),而浙江、福建、江苏、安徽、日本间的差异不显著(表2)。

2.2.3 齐墩果酸含量

枇杷花3种三萜类物质中齐墩果酸的含量较低(表1)。枇杷花的齐墩果酸含量为0.028%~0.118%,平均为0.067%,变异系数为25.99%。齐墩果酸含量最高的香钟1号(0.118%)是最低的砂锅酸(0.028%)的6.7倍。从图3可以看出,含量在0.053%~0.066%、0.066%~0.079%内的种质数分别有16份和15份,共占总份数的60.78%;而含量低和高的种质各有1份(砂锅酸和香钟1号)。

由表2可知,不同来源地枇杷花中齐墩果酸的

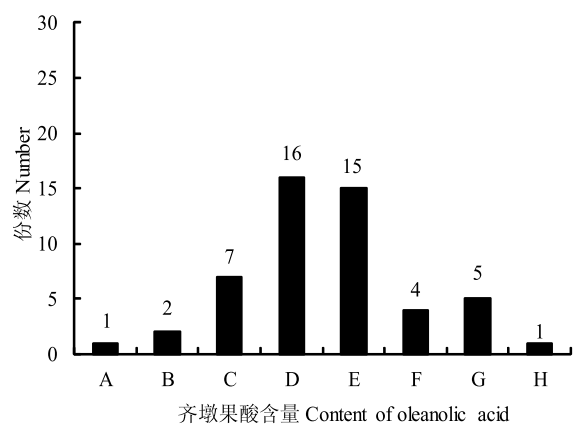


图3 枇杷花中齐墩果酸含量的分布。A: 0~0.028%; B: 0.028%~0.041%; C: 0.041%~0.053%; D: 0.053%~0.066%; E: 0.066%~0.079%; F: 0.079%~0.092%; G: 0.092%~0.105%; H: 0.105%~0.118%。

Fig. 3 Distribution of oleanolic acid content in loquat flowers. A: 0~0.028%; B: 0.028%~0.041%; C: 0.041%~0.053%; D: 0.053%~0.066%; E: 0.066%~0.079%; F: 0.079%~0.092%; G: 0.092%~0.105%; H: 0.105%~0.118%。

平均含量差异不明显, 来源于广东的含量变异系数最大(34.00%), 浙江的最小(2.76%)。来源于四川的平均含量最高, 为0.096%, 而来源于贵州的最低, 仅为0.045%, 仅与安徽、日本的达极显著差异($P<0.05$), 来源于福建、广东、江苏、浙江、广西、安徽、日本间的不显著。

表2 不同来源地枇杷花中熊果酸、科罗索酸、齐墩果酸的比较

Table 2 Comparison on ursolic acid, corosolic acid and oleanolic acid in loquat flowers among different origin						
三萜物质 Triterpenoid	产地 Origin	份数 Number	含量 Content (%)	最大 Max. (%)	最小 Min. (%)	变异系数 (%) Variation coefficient
科罗索酸 Corosolic acid	福建 Fujian	16	0.091±0.018bcABC	0.125	0.063	19.41
	广东 Guangdong	4	0.099±0.032abAB	0.152	0.067	32.56
	江苏 Jiangsu	3	0.070±0.005bcdBC	0.077	0.066	6.56
	浙江 Zhejiang	4	0.078±0.022bcdBC	0.115	0.057	27.94
	云南 Yunnan	3	0.055±0.011dC	0.069	0.042	19.82
	贵州 Guizhou	3	0.057±0.008cdBC	0.068	0.049	13.74
	广西 Guangxi	3	0.073±0.004bcdBC	0.077	0.067	6.02
	安徽 Anhui	3	0.083±0.015bcdBC	0.102	0.064	18.48
	四川 Sichuang	1	0.097	—	—	—
	江西 Jiangxi	1	0.08	—	—	—
	重庆 Chongqing	1	0.091	—	—	—
	日本 Japan	4	0.119±0.025aA	0.156	0.094	21.35
	西班牙 Spain	2	0.061	0.072	0.051	—
	美国 America	2	0.087	0.09	0.085	—
	越南 Vietnam	1	0.046	—	—	—
熊果酸 Ursolic acid	福建 Fujian	16	0.311±0.059abAB	0.465	0.212	18.83
	广东 Guangdong	4	0.263±0.044bcABC	0.325	0.214	16.57
	江苏 Jiangsu	3	0.283±0.012abABC	0.299	0.273	4.1
	浙江 Zhejiang	4	0.331±0.017aA	0.355	0.306	5.27
	云南 Yunnan	3	0.244±0.085bcABC	0.305	0.123	35.01
	贵州 Guizhou	3	0.200±0.017cC	0.223	0.182	8.58
	广西 Guangxi	3	0.235±0.030bcBC	0.259	0.193	12.73
	安徽 Anhui	3	0.299±0.027abABC	0.336	0.278	8.87
	四川 Sichuang	1	0.372	—	—	—
	江西 Jiangxi	1	0.298	—	—	—
	重庆 Chongqing	1	0.35	—	—	—
	日本 Japan	4	0.294±0.019abABC	0.325	0.276	6.63
	西班牙 Spain	2	0.226	0.254	0.198	—
	美国 America	2	0.331	0.37	0.291	—
	越南 Vietnam	1	0.246	—	—	—
齐墩果酸 Oleanolic acid	福建 Fujian	16	0.070±0.019abcdAB	0.118	0.039	26.43
	广东 Guangdong	4	0.068±0.023abcdeAB	0.104	0.042	34
	江苏 Jiangsu	3	0.064±0.005abcdeAB	0.07	0.06	7.11
	浙江 Zhejiang	4	0.071±0.002abcAB	0.074	0.069	2.76
	云南 Yunnan	3	0.050±0.016bcdeAB	0.065	0.028	32
	贵州 Guizhou	3	0.045±0.005ceB	0.05	0.038	10.85
	广西 Guangxi	3	0.058±0.004abcdeAB	0.063	0.053	6.95
	安徽 Anhui	3	0.075±0.014aA	0.093	0.059	18.38
	四川 Sichuang	1	0.096	—	—	—
	江西 Jiangxi	1	0.072	—	—	—
	重庆 Chongqing	1	0.086	—	—	—
	日本 Japan	4	0.073±0.013abAB	0.095	0.061	18.16
	西班牙 Spain	2	0.055	0.055	0.055	—
	美国 America	2	0.083	0.067	—	—
	越南 Vietnam	1	0.049	—	—	—

数据后不同大写和小写字母分别表示差异极显著($P<0.01$)和差异显著($P<0.05$)。

Data followed different capital and small letters indicated significant at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

2.3 聚类分析

利用DPS软件把枇杷花的熊果酸、科罗素酸、齐墩果酸含量进行标准化处理，选择欧氏距离和离差平方和法进行聚类分析，结果表明在欧氏距

离为15.60处，可将51份枇杷种质分为3类，即三萜类物质含量按高、中、低分为3大类群(表3)。按此标准，麻栗坡枇杷和栎叶枇杷均为高三萜类物质含量种质。

表3 基于3种三萜类物质含量的枇杷种质资源聚类分析

Table 3 Cluster result based on 3 triterpenoids contents in loquat flowers

三萜类物质含量 Triterpenoids content	份数 Number	种质 Germplasms
高 High	15	长红3号，大五星，短柄扁核、丰都枇杷、先进、贵妃、大红袍、太城4号、森尾早生、香钟1号、港口8号、东湖早、闽矮1号、豆枇杷、茂木 Changhong No. 3, Dawuxing, Duanbingbianhe, Fengdupipa, Advance, Guifei, Dahongpao, Taicheng 4 hao, Moriowase, Xiangzhong No. 1, Gangkou No. 8, Donghuzao, Min'ai No. 1, Doupipa, Mogi
中 Middle	27	大乌脐、小毛枇杷、西班牙2号、龙门1号、白玉、多6号、多12号、冰糖种、长柄扁核、乌躬白、兴安白肉、冠玉、宁海白、软条白沙、实生杨墩、卷叶枇杷、钟香25号、香甜、多43号、田中、香槟、皖泊、多宝2号、解放钟、杨梅洲4号、新白6号、早钟6号 Dawuji, Xiaomaopipa, Spain No. 2, Longmen No. 1, Baiyu, Duo No. 6, Duo No. 12, Bingtangzhong, Changbingbianhe, Wugongbai, Xing'anbairou, Guanyu, Ninghaibai, Ruantiaobaisha, Shishengyangdun, Juanyepipa, Zhongxiang No. 25, Xiangtian, Duo No. 43, Tanaka, Champagne, Wanbo, Duobao No. 2, Jiefangzhong, Yangmeizhou 4 hao, Xinbai No. 6, Zaozhong No. 6
低 Low	9	砂锅酸、埂坡枇杷、荔枝枇杷、酸枇杷、闽3号、白糖种、西班牙1号、贵州野生、友弄1号 Shaguosuan, Gengpopipa, Lizhipipa, Suanpipa, Min No. 3, Baitangzhong, Spain No. 1, Guizhouyesheng, Younong No. 1

第Ⅰ类的三萜类物质含量较低，包含砂锅酸、埂坡枇杷、荔枝枇杷等9份种质，熊果酸、科罗素酸、齐墩果酸的含量均低于平均值，即分别低于0.288%、0.067%和0.057%，这可以作为枇杷种质资源花三萜类物质含量低的分级指标。

第Ⅱ类有大乌脐、小毛枇杷、钟香25号等27份种质，熊果酸、科罗素酸、齐墩果酸含量三者之一分别高于0.288%、0.067%和0.057%，且同时分别低于0.332%、0.100%和0.073%。这可以作为枇杷种质资源花三萜类物质中含量的分级指标。

第Ⅲ类有长红3号、大红袍、贵妃等15份种质，熊果酸、科罗素酸、齐墩果酸含量三者之一分别高于0.332%、0.100%、0.073%，可以作为枇杷种质资源花三萜类物质含量高的分级指标。同时，贵妃、香钟1号、长红3号花的科罗素酸、熊果酸、齐墩果

酸含量均较高。

2.4 主栽品种间三萜类物质含量的方差分析

对早钟6号、大五星、软条白沙、茂木等8个国内外主栽枇杷品种^[13]中三萜类物质含量进行方差分析(表4)。结果表明，茂木的科罗素酸含量最高，与其他品种均达极显著差异($P<0.01$)。长红3号、贵妃、大五星、解放钟、早钟6号等5个品种的科罗素酸含量也较高，但差异不显著，而与软条白沙和冠玉差异显著($P<0.05$)。而软条白沙和冠玉的含量较低，分别为0.070%和0.067%，无显著差异。

主栽枇杷品种中熊果酸含量以长红3号最高，与软条白沙、茂木、早钟6号、冠玉、解放钟等5个品种间有极显著差异($P<0.01$)。早钟6号是我国栽培面积最大的早熟枇杷品种，与长红3号、大五星达

表4 主栽品种枇杷花中科罗素酸、熊果酸、齐墩果酸含量

Table 4 Contents of corosolic acid, ursolic acid and oleanolic acid in flowers of main cultivar loquat

品种 Variety	科罗素酸 Corosolic acid	熊果酸 Ursolic acid	齐墩果酸 Oleanolic acid
解放钟 Jiefangzhong	0.093±0.012bcd	0.284±0.022e	0.073±0.005bABC
大五星 Dawuxing	0.097±0.021bc	0.372±0.015aB	0.096±0.008aA
早钟6号 Zaozhong No.6	0.091±0.004cd	0.319±0.021cd	0.071±0.004bBC
长红3号 Changhong No.3	0.113±0.001b	0.384±0.013aA	0.094±0.011aAB
贵妃 Guifei	0.108±0.009bc	0.355±0.013abABC	0.083±0.009abABC
软条白沙 Ruantiaobaisha	0.070±0.011de	0.330±0.009bcd	0.069±0.010bC
冠玉 Guanyu	0.067±0.003e	0.299±0.012de	0.070±0.011bBC
茂木 Mogi	0.156±0.002a	0.325±0.007bcd	0.069±0.005bC

数据后不同大写和小写字母分别表示差异极显著($P<0.01$)和差异显著($P<0.05$)。

Data followed different capital and small letters indicated significant at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

极显著差异($P<0.01$), 与贵妃、解放钟差异显著($P<0.05$)。贵妃枇杷是我国第一个通过国家品种审定的白肉枇杷新品种, 其熊果酸含量为0.355%, 审定的白肉枇杷新品种, 其熊果酸含量为0.355%, 略低于长红3号和大五星, 与解放钟、冠玉差异极显著($P<0.01$)。

8个主栽枇杷品种花中大五星、长红3号的齐墩果酸含量较高, 均与解放钟、早钟6号、冠玉、茂木、软条白沙的差异达显著水平($P<0.05$)。解放钟、早钟6号、冠玉、茂木、软条白沙的齐墩果酸含量为0.069%~0.073%, 品种间均无显著差异。

3 讨论

本研究首次较系统地对枇杷种质资源花中3种三萜类物质进行了评价, 结果表明不同枇杷种质花的3种三萜类物质含量变化较大, 且差异显著。51份枇杷花中科罗索酸含量的变异系数最大(29.34%), 齐墩果酸含量的差异最大(最高和最低达6.7倍), 熊果酸含量最高(占3种三萜类物质总含量的65.6%)。来源于广东、云南的枇杷种质资源花中三萜类物质含量的变异较丰富, 而广西、江苏、浙江的变异相对较小。这为今后开展更加系统的枇杷种质资源花中三萜类物质的鉴定评价奠定了基础。

科罗索酸是近年来发现的一种降血糖功能因子, 已从枇杷叶^[10]、大叶紫薇(*Lagerstroemia speciosa*)^[11]、乌饭树(*Vaccinium bracteatum*)叶^[12]、山茱萸(*Cornus officinalis*)^[13]、白马骨(*Serissa serissoides*)^[14]、青钱柳(*Cyclocarya paliurus*)叶^[15]、美洲凌霄花(*Campsis radicans*)^[16]、金莲花(*Trollius chinensis*)^[17]等植物中分离出来, 但仅见报道大叶紫薇热水浓缩提取物、醇浓缩提取物和枇杷叶的科罗索酸含量^[10], 分别为0.01%、1%和0.352%~0.808%。虽然51份枇杷种质资源花中科罗索酸含量较低, 为0.084%, 但也筛选出含量高于0.150%的茂木和港口8号2份特异枇杷种质; 说明有望通过扩大筛选范围获得更高科罗索酸含量的枇杷特异资源。

熊果酸和齐墩果酸是同分异构体, 具有抗炎、利尿、抗肿瘤、护肝等多种生物活性^[18-21]。而对枇杷花中熊果酸和齐墩果酸的研究报道集中在分离鉴定和测试方法上^[7-8], 对不同品种间差异研究较少。周春华^[4]测定大红袍和软条白沙枇杷花的熊果酸和齐墩果酸含量低于本研究结果, 但大红袍的2

种三萜类物质含量高于软条白沙与本文结果一致, 可能与栽培条件、地域、气候等因素有关。杨必坤^[22]对四川、浙江、福建和重庆的13个批次枇杷花进行了测定, 认为枇杷花中的熊果酸、齐墩果酸含量有明显的地区差异, 熊果酸平均含量从高到低依次为浙江、福建、四川; 齐墩果酸平均含量则是福建、四川、浙江。这与本研究结果不一致, 由于这13个批次没有明确的品种名称, 无法分析其中原因。增加不同来源地种质的筛选数量, 以探讨枇杷种质资源中熊果酸和齐墩果酸含量地域相关性。

通过聚类分析建立分级指标已在龙眼(*Dimocarpus longan*)多糖研究中取得良好效果^[23]。本研究基于3种三萜类物质含量进行聚类分析, 首次初步提出了高、中、低的分级指标, 对51份枇杷种质资源进行三萜类物质含量分类, 可为今后枇杷花三萜类物质合成代谢及育种研究提供材料。8个枇杷主栽良种只有来源福建的贵妃和长红3号处于高含量区间, 国内大面积栽培的早钟6号、大五星等红肉枇杷品种处于中含量区间, 表明在新品种选育上还有很大的潜力。

参考文献

- [1] ZHENG S Q. Color Illustrations of Loquat Variety with High Quality Cultivation Techniques [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005: 1-185.
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: 1-185.
- [2] LI Q, YANG B K, ZHANG X Y, et al. Contents of effective components in flowers of *Eriobotrya japonica* [J]. Guihaia, 2009, 29(5): 698-702. doi: 10.3969/j.issn.1000-3142.2009.05.028.
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. doi: 10.3969/j.issn.1000-3142.2009.05.028.
- [3] WANG J B, YANG B K, ZHANG H, et al. Antitussive effect of extract from flowers of *Eriobotrya japonica* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2009, 40(7): 1106-1109.
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.
- [4] ZHOU C H, CHEN K S, SUN C D, et al. Determination of oleanolic acid, ursolic acid and amygdalin in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl. by HPLC [J]. Biomed Chromatogr, 2007, 21(7): 755-761. doi: 10.1002/bmc.817.
- [5] CHENG L, GAO Z X, CHEN L Y, et al. Isolation and identify of triterpenoids from loquat flower [J]. Chin Wild Plant Res, 1999, 18(2): 50, 47.
成丽, 高朝霞, 陈凌亚, 等. 枇杷花三萜皂甙的分离与鉴定 [J]. 中

- 国野生植物资源, 1999, 18(2): 50,47.
- [6] CHEN L S, CAI Q X, XIN Y, et al. Study on optimum process for extracting corosolic acid from *Eriobotrya japonica* leaves by orthogonal test [J]. Chem Ind Forest Prod, 2006, 26(3): 110–112. doi: 10.3321/j.issn:0253–2417.2006.03.027.
- 陈龙胜, 蔡群兴, 忻旸, 等. 正交试验法优选枇杷叶中科罗素酸提取工艺的研究 [J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 110–112. doi: 10.3321/j.issn:0253–2417.2006.03.027.
- [7] ZHANG X Y, HUANG C P, ZHANG H, et al. RP-HPLC determination of oleanolic acid and ursolic acid in flowers of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. from different habits of Sichuan [J]. Chin J Pharm Anal, 2007, 27(1): 129–131.
- 张晓喻, 黄春萍, 张宏, 等. RP-HPLC测定四川不同产地枇杷花中齐墩果酸和熊果酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(1): 129–131.
- [8] CHEN J Q. The study of extracted technology of triterpenoids in the loquat flowers [J]. J Putian Univ, 2010, 17(5): 25–27. doi: 10.3969/j.issn.1672–4143.2010.05.007.
- 陈建琴. 枇杷花中三萜类化合物的提取工艺研究 [J]. 莆田学院学报, 2010, 17(5): 25–27. doi: 10.3969/j.issn.1672–4143.2010.05.007.
- [9] LIANG M Y, CHEN Y P, ZONG W. Research progress of corosolic acid with the function of dropping blood sugar [J]. Food Nutr China, 2007(5): 17–18. doi: 10.3969/j.issn.1006–9577.2007.05.005.
- 梁茂雨, 陈怡平, 纵伟. 降血糖功能因子科罗素酸研究进展 [J]. 中国食物与营养, 2007(5): 17–18. doi: 10.3969/j.issn.1006–9577.2007.05.005.
- [10] JU J H, ZHOU L, LIN G, et al. Studies on constituents of triterpene acids from *Eriobotrya japonica* and their anti-inflammatory and antitussive effects [J]. Chin Pharm J, 2003, 38(10): 752–757. doi: 10.3321/j.issn:1001–2494.2003.10.016.
- 鞠建华, 周亮, 林耕, 等. 枇杷叶中三萜酸类成分及其抗炎、镇咳活性研究 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38(10): 752–757. doi: 10.3321/j.issn: 1001–2494.2003.10.016.
- [11] JUDY W V, HARI S P, STOGSDILL W W, et al. Antidiabetic activity of a standardized extra (Glucosol TM) from *Lagerstroemia speciosa* leaves in type II diabetes: A dose-dependence study [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 87(1): 115–117.
- [12] YAO S. Studies on the chemical constituents from leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb. [D]. Suzhou: Soochow University, 2013: 1–39.
- 姚士. 乌饭树叶的化学成分研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013: 1–39.
- [13] LIU B, WU H Z. Studies in triterpene acids from *Corni fructus* [J]. Hubei J Trad Chin Med, 2010, 32(12): 75–76. doi: 10.3969/j.issn. 1000–0704.2010.12.055.
- 刘博, 吴和珍. 山茱萸药材中三萜类成分的研究 [J]. 湖北中医杂志, 2010, 32(12): 75–76. doi: 10.3969/j.issn.1000–0704.2010.12.055.
- [14] LI Y L, WANG G, XUE J Y, et al. Studies on chemical constituents from *Serissa serissoides* [J]. Chin J Chin Mater Med, 2007, 32(7): 605–608. doi: 10.3321/j.issn:1001–5302.2007.07.014.
- 李药兰, 王冠, 薛珺一, 等. 白马骨化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(7): 605–608. doi: 10.3321/j.issn:1001–5302.2007.07. 014.
- [15] LI T, SHANGGUAN X C, YIN Z P, et al. The separation and identification of triterpenoids from leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. Acta Agri Univ Jiangxi, 2013, 35(5): 1048–1054. doi: 10.3969/j.issn. 1000–2286.2013.05.027.
- 李田, 上官新晨, 尹忠平, 等. 青钱柳叶三萜化合物分离与鉴定 [J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(5): 1048–1054. doi: 10.3969/j.issn. 1000–2286.2013.05.027.
- [16] HAN H Y. Studies on the chemical constituents from *Campsis radicans* (L.) Seem [D]. Suzhou: Soochow University, 2013: 1–27.
- 韩海燕. 美洲凌霄花化学成分研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013: 1–27.
- [17] ZHANG Y H. The technology study of *Trollius chinensis* corosolic acid [J]. For Sci Techn, 2013, 38(5): 36–39. doi: 10.3969/j.issn. 1001–9499.2013.05.013.
- 张亚红. 聚酰胺纯化金莲花中科罗素酸的工艺研究 [J]. 林业科技, 2013, 38(5): 36–39. doi: 10.3969/j.issn.1001–9499.2013.05.013.
- [18] VASONCELOS M A L, ROYA V A, FERREIRA D S, et al. *In vivo* analgesic and anti-inflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae) [J]. Z Naturforsch C, 2006, 61(7/8): 477–482. doi: 10.1515/znc-2006-7-803.
- [19] SHIBATA S. Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds [J]. J Korean Med Sci, 2001, 16(Suppl): S28–S37. doi: 10.3346/jkms.2001.16.S.S28.
- [20] YOUNG H S, LEE C K, PARK S W, et al. Antitumor effects of ursolic acid isolated from the leaves of *Eriobotrya japonica* [J]. Nat Med, 1995, 49(2): 190–192.
- [21] KASHIWADA Y, NAGAO T, HASHIMOTO A, et al. Anti-AIDS agents: 38. Anti-HIV activity of 3-*O*-acyl ursolic acid derivatives [J]. J Nat Prod, 2000, 63(12): 1619–1622. doi: 10.1021/np990633v.
- [22] YANG B K. Studies on the quality criterion of flowers of *Eriobotrya japonica* (Thunb) Lindl. [D]. Chengdu: Sichuan Normal University, 2010: 51–52.
- 杨必坤. 枇杷花药材质量标准研究 [D]. 成都: 四川师范大学, 2010: 51–52.
- [23] ZHENG S Q, ZHENG J G. Research on the polysaccharides content of different genotypes of longan (*Dimocarpus longan*) [J]. J Fruit Sci, 2006, 23(2): 232–236. doi: 10.3969/j.issn.1009–9980.2006.02.018.
- 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. doi: 10.3969/j.issn.1009–9980.2006.02. 018.