

油橄榄品种间叶片性状及总黄酮含量分析

龙伟¹, 王裕斌², 姚小华^{1*}, 都卫东³, 吕乐燕⁴, 任华东¹

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江省林木育种技术研究重点实验室, 杭州 311400; 2. 青川县青源林农产品有限责任公司, 四川 青川 628100; 3. 青川县林业和园林局, 四川 青川 628100; 4. 浙江同济科技职业学院水利系, 杭州 311231)

摘要: 为了解油橄榄(*Olea europaea* L.)叶片性状和总黄酮含量在品种间的差异, 对四川省青川县栽培的10个油橄榄品种的叶片性状和总黄酮含量进行测量。结果表明, 叶片性状在品种间的差异均达到显著水平, 且性状间存在显著或极显著相关性。‘钟山24号’的叶面积最大, ‘皮削利’的最小。叶片性状中以周长的变异系数最大, 叶面积的最小。‘鄂植8号’的叶面积、‘莱星’的叶宽、‘小苹果’叶长宽比、‘埃蒙’的叶形的变异系数最大, 而‘皮削利’的叶片性状相对稳定。6个叶片性状可以简化成形状系数和叶长作为主要代表性状。叶片总黄酮含量为0.07~3.39 mg g⁻¹, 品种间存在显著差异, 春梢含量总体高于秋梢; ‘皮削利’、‘豆果’、‘钟山24号’和‘卡林’的春秋梢叶片含量差异较大, ‘佛奥’的最小; ‘鄂植8号’和‘科拉蒂’春秋梢叶片的总黄酮含量较高, ‘皮削利’的秋梢好于春梢; ‘卡林’的春梢叶片的总黄酮含量最少, 为3.02 mg g⁻¹, 秋梢中‘豆果’的最低, 为2.64 mg g⁻¹; ‘科拉蒂’、‘钟山24号’、‘埃蒙’和‘鄂植8号’的总黄酮含量与叶片性状存在显著或极显著的正相关或负相关。这说明总黄酮含量在一定程度上受到叶片生长的影响。

关键词: 油橄榄; 叶片; 总黄酮

doi: 10.11926/jtsb.3708

Analysis of Leaf Characteristics and Content of Total Flavonoids among Varieties of *Olea europaea* L.

LONG Wei¹, WANG Yu-bing², YAO Xiao-hua^{1*}, DU Wei-dong³, LÜ Le-yan⁴, REN Hua-dong¹

(1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Tree Breeding, Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, China;
2. Qingyuan Forestry Product Limited Company of Qingchuan Xian, Qingchuan 628100, Sichuan, China; 3. Forestry and Garden Bureau of Qingchuan Xian, Qingchuan 628100, Sichuan, China; 4. Department of Water Conservancy, Zhejiang Tongji Vocational College of Science and Technology, Hangzhou 311231, China)

Abstract: In order to understand the differences in leaf characteristics and total flavonoids content among *Olea europaea* varieties, the leaf characteristics and content of total flavonoids in ten varieties grown in Qingchuan County, Sichuan were determined. The results showed that there were significant differences in leaf characteristics among varieties, and there were significant correlations among leaf characteristics. The leaf area of ‘Zhongshan 24’ was the largest among varieties, and the smallest in ‘Picholine’. The variation coefficient of leaf perimeter was the highest among leaf characteristics, and the lowest in leaf area. The variation coefficient were the largest in leaf area for ‘E’zhi 8’, leaf width for ‘Leccion’, leaf ratio of length to width for ‘Manzalia’, and leaf shape coefficient for ‘Empetry’. The variation coefficient in leaf characteristics of ‘Picholine’ was lower than other varieties. The six leaf characteristics in *Olea europaea* could be simplified into two representative traits, such as shape coefficient and leaf length. There was significant difference in content of total flavonoids among varieties. The

收稿日期: 2016-12-06 接受日期: 2017-03-06

基金项目: 浙江省林木育种专项(2016C02056-6); 林业公益性行业科研专项(201104052)资助

This work was supported by the Special Project for Tree Breeding of Zhejiang (Grant No. 2016C02056-6), and the Special Fund for Forestry Research in the Public Welfare (Grant No. 201104052).

作者简介: 龙伟(1981~), 男, 助理研究员, 主要研究经济林树种良种繁育与遗传育种。E-mail: yusitongsheng@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: yaoxh168@163.com

content of total flavonoids in autumn shoots was higher than that in spring shoots, ranged from 0.07 to 3.39 mg g⁻¹. The content of total flavonoids in ‘Picholine’, ‘Arebiqunia’, ‘Zhongshan 24’ and ‘Kalinjot’ had significant difference between spring shoots and autumn shoots, while it had litter difference in ‘Frantoio’. The content of total flavonoids in spring shoots and autumn shoots of ‘E’zhi 8’ and ‘Coratina’ were higher than other varieties, and that in autumn shoots of ‘Picholine’ was higher than that in spring shoots. The content of total flavonoids was the lowest in spring shoots of ‘Kalinjot’ with 3.02 mg g⁻¹ and in autumn shoots of ‘Arbequina’ with 2.64 mg g⁻¹. There were significant or very significant of positive or negative correlations between total flavonoids and leaf characteristics in ‘Coratina’, ‘Zhongshan 24’, ‘Empetry’ and ‘E’Zhi 8’. So, it was suggested that the content of total flavonoids was influenced by growth of leaf.

Key words: *Olea europaea*; Leaf characteristics; Total flavonoid

油橄榄(*Olea europaea* L.)是世界四大木本油料树种之一，提取的橄榄油因健康、优质和营养丰富受到广泛关注，在世界范围内大量种植^[1]；中国的引种始于上世纪 60 年代，种植范围遍及南方各省市，经过几十年对气候、土壤、产量和物候期的观察和测定，划分出适生区域范围^[2]。本世纪初大量从地中海各国引进良种，在甘肃、四川等地大面积种植，有力地推动油橄榄产业的发展^[3]。但作为外来引进树种，油橄榄生长常因气候^[4]、地理环境^[5]、土壤^[6]、温湿度^[7]等环境的改变，生长状态、果实和叶片性状发生较大变化^[8~10]，与原产地存在差异。叶片作为树木响应环境变化的外在反映器官，与生长密切相关，能充分体现新环境下生长状态，开展叶片表型性状的分析能充分了解品种间生长的差异及叶片内含物变化规律。通过对油橄榄叶片内含物的研究，发现其富含角鲨烯、维生素 E、有机酸、蛋白质、氨基酸、橄榄苦苷和黄酮等生物活性成分^[11~15]，且生物活性物质在叶中的含量是果实的 1~9 倍，是橄榄油的数百倍^[16~18]，具备较强的药用和保健开发价值。随着油橄榄种植面积的扩大，冬季整形修剪所产生的大量枝叶等废弃物，常遗留于地块或者大量堆积，不仅易造成火灾隐患也对环境造成污染^[19~21]，因此生产上面临如何解决废弃物的利用问题。

目前国内对油橄榄叶片总黄酮含量受加工方式^[22]和季节^[23]等影响的变化规律的研究较多，但对叶片性状变化及与总黄酮含量间的相关性研究较少^[24]。由于国内无原生油橄榄种质资源，多从国外引进，因此有必要对现有资源的性状进行分析，摸清油橄榄品种叶片变化规律，研究品种间叶片性状与总黄酮含量之间的差异与相关性，为后期油橄榄叶片的综合利用开发提供技术支持，并为新品种培育提供帮助。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地位于四川省青川县沙州镇，属亚热带湿润季风气候，年平均气温 13.7℃，年降水量 1027.2 mm。 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 年积温为 5028℃， $\geq 19^{\circ}\text{C}$ 年积温为 4247℃，气温从东至西逐渐降低。日照时数 1292 h，年无霜期 243 d，空气湿度 69%~85%，多年平均水面蒸发量 727.9 mm，陆面蒸发量 546.1 mm。土壤为山地黄壤，pH 为 6.5~7.5，土层厚度在 40~80 cm。

1.2 材料

油橄榄(*Olea europaea* L.)叶片采自四川省青川县青源林农产品有限责任公司油橄榄品种园内，在造林 5 年的林分内选取‘埃蒙’(Empetry)、‘佛奥’(Frantoio)、‘莱星’(Leccion)、‘小苹果’(Manzalia)、‘豆果’(Arbequina)、‘科拉蒂’(Coratina)、‘皮削利’(Picholine)、‘卡林’(Kalinjot)、‘鄂植 8 号’和‘钟山 24 号’共 10 个品种。

1.3 设备和试剂

芦丁对照品经中国药品生物制品检定所检定；甲醇、乙醇、AlCl₃、Al(NO₃)₃、NaNO₂、CH₃Cook、NaOH 均为分析纯；水为 I 级水。

电热恒温鼓风干燥箱(南京实验仪器厂)；AE100 电子天平(瑞士梅特勒托利多公司)；SHZ-88 台式水浴恒温振荡器(江苏太仓市实验设备厂)；台式超声波清洗器(总功率 300W)(上海科导超声仪器有限公司)；超纯水机(美国热电公司)；723N 可见分光光度计(上海精科仪器有限公司)。

1.4 方法

叶片性状测定 为保证叶片生长完整，2015

年12月中旬采集当年春梢上的新鲜叶片100张,每个品种采集3株树,用自封袋装好,带回实验室。将采集后的叶片平铺于EPSON700扫描仪,对叶片进行扫描;利用WinFOLIA(Pro 2005)软件进行叶片形态特征分析,测量叶长、叶宽、叶面积和周长,计算叶片长宽比和形状系数等。

总黄酮含量测定 参照钟冬莲^[25]的方法测定叶片的总黄酮含量。精确称取芦丁对照品0.0050 g,置于小烧杯中,加体积分数70%甲醇溶液后,移入100 mL容量瓶中,用甲醇溶液稀释至刻度,摇匀配制成为质量浓度为0.0500 mg mL⁻¹溶液。将新鲜的油橄榄叶片洗净、擦干,于室温下粉碎,称取4份0.5~1 g,精确至0.0001 g的样品放入250 mL的带塞锥形瓶中。先往锥形瓶中加入30 mL提取液,盖上瓶塞,在210 W功率、50℃下超声1 h,趁热过滤,分别用提取液洗涤滤纸和锥形瓶,最后用提取液定容至50 mL,摇匀。取1 mL样品溶液置于10 mL的比色管中,加入0.1 mol L⁻¹ AlCl₃溶液2 mL,加入1 mol L⁻¹的乙酸钾溶液3 mL,用70%甲醇溶液定容至刻度,摇匀,室温下放置30 min,于420 nm波长处用分光光度计比色法测定。

1.5 数据分析

在Excel 2010中计算各性状的变异系数(CV)(标准差/平均数)作为叶片形态变异度的测度。运用SPSS 19.0单因素方差分析法(One-Way ANOVA)的LSD和Duncan检验对叶片的性状指标和总黄酮含量指标进行方差分析;用主成分分析法反映性状的综合指标;用双侧检验法开展相关性分析摸清叶片性状与总黄酮含量之间的相关性。

2 结果和分析

2.1 油橄榄叶片性状分析

对油橄榄叶片性状进行方差分析和多重比较表明(表1),油橄榄品种间叶片的叶面积、周长、长度、宽度、长宽比和形状系数的差异均达到显著水平。以‘钟山24号’的叶面积、叶长最大;‘小苹果’的长宽比最大,叶宽最小;‘皮削利’的形状系数、周长、叶面积最小;‘鄂植8号’的叶片长度、长宽比最小。叶片各性状的变异系数分别为周长(9.05%)、叶宽(9.03%)、形状系数(8.18%)、叶长(8.15%)、叶长宽比(7.28%)和叶面积(5.60%)。不同品种叶片性

状的变异系数分别为叶面积2.88%~9.14%、周长5.66%~12.87%、叶宽4.86%~13.26%、叶长4.24%~10.93%、叶长宽比3.97%~11.60%、形状系数3.91%~15.46%;其中叶面积变异系数最大的是‘鄂植8号’,最小的是‘皮削利’;周长最大的是‘鄂植8号’,最小的是‘卡林’;叶宽最大为‘莱星’,最小为‘皮削利’;叶长最大为‘莱星’,最小为‘卡林’;叶片长宽比最大为‘小苹果’,最小为‘豆果’;形状系数最大为‘埃蒙’,‘皮削利’最小。这表明‘鄂植8号’叶片形态变化较为明显,而‘皮削利’的叶片形态差异较小;‘埃蒙’的叶片形状系数最大,而‘皮削利’最小,说明‘埃蒙’的叶片形状变化多样,‘皮削利’叶片形状较为稳定。

2.2 叶片性状的相关性分析

相关性分析结果表明(表2),油橄榄的叶面积与周长、叶长、叶宽存在极显著正相关,与形状系数存在极显著负相关;周长与叶长、叶宽存在极显著正相关,与形状系数存在极显著负相关;叶宽与叶长、形状系数存在极显著正相关,与叶片长宽比存在极显著负相关;叶宽与叶片长宽比存在极显著正相关,与形状系数存在极显著或显著负相关;长宽比与形状系数存在极显著负相关。这说明随着油橄榄叶片面积的增大,叶片形态并不随之发生变化,而是受到叶长和叶宽的影响。

2.3 叶片性状的主成分分析

由于油橄榄叶片各性状间存在相关性,利用主成分分析对各性状进行归类分析。结果表明(表3),前3个主成分的特征值>1,累积贡献率达到97.35%,第一个主成分的贡献率最大,为49.06%,其次为第二和第三主成分的贡献率,分别为31.32%和17.06%;对主成分进行旋转因子分析(表4),第一主成分由叶面积、周长、叶长、叶宽和形状系数决定;第二主成分由叶宽、叶长宽比和形状系数决定;第三主成分由叶长和形状系数决定;形状系数出现在第一、二和三主成分,叶长出现第一和第三主成分中,说明形状系数和叶长是决定叶片性状的主要因素。

2.4 叶片性状与总黄酮含量的相关性分析

对油橄榄春梢和秋梢叶片的总黄酮含量进行方差分析和多重比较(表5),除‘卡林’和‘鄂植8号’春梢间的总黄酮含量存在显著差异外,其他品种间无显著差异。秋梢叶片的总黄酮含量在品种间的差

表 1 油橄榄品种的叶片性状特征

Table 1 Leaf characters of *Olea europaea* varieties

		‘小苹果’ ‘Manzalia’	‘科拉蒂’ ‘Coratina’	‘鄂植 8 号’ ‘E’zhi 8’	‘埃蒙’ ‘Empetry’	‘佛奥’ ‘Frantoio’	‘卡林’ ‘Kalinjot’
面积 (cm ²)	最小 Min.	2.40	3.43	3.19	4.23	4.25	5.45
	最大 Max.	4.90	6.99	5.06	7.80	8.99	10.45
	平均 Mean	3.70 ± 0.53Bb	4.70 ± 1.10Cc	4.11 ± 0.43B Cbc	6.58 ± 1.03Dd	5.99 ± 1.37Cd	7.85 ± 1.56Ee
	CV	6.97	4.25	9.60	6.37	4.37	5.02
周长 (cm)	最小 Min.	9.06	10.75	8.81	11.70	11.08	12.38
	最大 Max.	14.15	15.04	11.92	16.11	16.09	21.14
	平均 Mean	12.24 ± 1.02Cc	13.00 ± 1.34Cc	10.53 ± 0.86Bb	14.66 ± 1.14Dd	13.31 ± 1.37CDc	17.52 ± 3.10Ee
	CV	12.02	9.67	12.28	12.87	9.74	5.66
叶宽 Width (cm)	最小 Min.	0.91	1.02	1.22	1.25	1.24	1.46
	最大 Max.	1.24	1.69	1.69	2.34	2.01	1.86
	平均 Mean	1.03 ± 0.08Aa	1.24 ± 0.18Bb	1.44 ± 0.12CDEcd	1.61 ± 0.25EFef	1.58 ± 0.22EFef	1.66 ± 0.13Ff
	CV	12.75	6.72	12.35	6.51	7.08	12.88
叶长 Length (cm)	最小 Min.	3.87	3.72	3.35	3.82	4.23	4.94
	最大 Max.	5.89	6.23	5.11	7.03	6.35	8.19
	平均 Mean	5.05 ± 0.49ABbc	5.23 ± 0.69BCbc	4.33 ± 0.47Aa	5.92 ± 0.79Cd	5.40 ± 0.61BCcd	6.63 ± 1.14De
	CV	10.3	7.56	9.28	7.50	8.84	5.79
长宽比 Ratio of length to width	最小 Min.	4.16	3.23	2.30	1.64	2.93	2.91
	最大 Max.	5.57	5.04	3.92	4.48	4.71	4.99
	平均 Mean	4.89 ± 0.42Ee	4.27 ± 0.55CDEd	3.04 ± 0.48Aa	3.77 ± 0.68BCDbc	3.44 ± 0.42ABab	4.01 ± 0.76BCDcd
	CV	11.60	7.77	6.35	5.59	8.14	5.26
形状系数 Shape coefficient	最小 Min.	0.28	0.30	0.37	0.34	0.29	0.25
	最大 Max.	0.37	0.40	0.57	0.43	0.55	0.46
	平均 Mean	0.31 ± 0.03Aa	0.35 ± 0.03ABab	0.47 ± 0.06Bc	0.38 ± 0.02ABabc	0.42 ± 0.06ABbc	0.33 ± 0.07Aab
	CV	12.3	10.16	7.61	15.46	7.09	4.44
		‘钟山 24 号’ ‘Zhongshan 24’	‘皮削利’ ‘Pichnolia’	‘莱星’ ‘Leccion’	‘豆果’ ‘Arbequina’	CV	
面积 (cm ²)	最小 Min.	6.39	1.20	1.00	2.57		
	最大 Max.	11.83	3.25	4.22	7.19		
	平均 Mean	9.08 ± 1.79Ff	1.99 ± 0.69Aa	2.67 ± 0.82Aa	4.52 ± 1.15BCc		
	CV	5.07	2.88	3.25	9.14	5.60	
周长 Perimeter (cm)	最小 Min.	15.20	4.31	4.50	15.33		
	最大 Max.	20.65	7.84	7.84	15.33		
	平均 Mean	17.18 ± 1.79Ee	5.95 ± 0.94Aa	6.28 ± 1.01Aa	12.69 ± 1.89Cc		
	CV	9.57	6.32	6.22	6.71	9.05	
叶宽 Width (cm)	最小 Min.	1.46	0.96	1.25	0.95		
	最大 Max.	2.29	1.85	1.68	1.66		
	平均 Mean	1.88 ± 0.24Gg	1.26 ± 0.26BCb	1.50 ± 0.11DEFde	1.34 ± 0.18BCDbc		
	CV	7.94	4.86	13.26	7.53	9.03	
叶长 Length (cm)	最小 Min.	5.98	4.35	4.11	2.54		
	最大 Max.	8.59	6.40	5.74	6.59		
	平均 Mean	6.93 ± 0.87De	5.34 ± 0.59BCbc	5.13 ± 0.47Bbc	4.86 ± 1.14ABab		
	CV	7.99	9.08	10.93	4.24	8.15	
长宽比 Ratio of Length to width	最小 Min.	3.14	2.52	2.79	1.75		
	最大 Max.	4.32	5.73	4.23	5.41		
	平均 Mean	3.72 ± 0.40BCbc	4.39 ± 0.86DEd	3.42 ± 0.32ABab	3.67 ± 0.92ABCbc		
	CV	9.32	5.10	10.68	3.97	7.28	
形状系数 Shape coefficient	最小 Min.	0.23	0.17	0.62	0.27		
	最大 Max.	0.32	0.40	1.11	0.48		
	平均 Mean	0.27 ± 0.03ABabc	0.23 ± 0.07Cd	0.84 ± 0.13Cd	0.35 ± 0.06ABab		
	CV	9.30	3.91	6.30	6.28	8.18	

CV: 变异系数。同行数据后不同大小写字母分别表示差异极显著($P < 0.01$)和显著($P < 0.05$)。

CV: Variation coefficient. Data followed different capital and small letters in the same line indicate significant difference at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

表2 油橄榄叶片性状的相关性

Table 2 Correlation among leaf characters of *Olea europaea*

	叶面积 Area	周长 Perimeter	宽 Width	长 Length	长宽比 Ratio of length to width	形状系数 Shape coefficient
叶面积 Area	1					
周长 Perimeter	0.883**	1				
叶宽 Width	0.669**	0.328**	1			
叶长 Length	0.661**	0.556**	0.356**	1		
叶长宽比 Ratio of length to width	-0.061	0.169*	-0.595**	0.506**	1	
叶形状系数 Shape coefficient	-0.359**	-0.690**	0.228**	-0.115	-0.312**	1

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

表3 主成分特征值、贡献率及累计贡献率

Table 3 Eigen value, contribution rate and accumulative contribution rate of principal components

成份 Principal component	特征值 Eigen value	贡献率 (%) Contribution rate	累积贡献率 (%) Accumulate contribution rate
1	2.944	49.064	49.064
2	1.873	31.223	80.288
3	1.024	17.064	97.352
4	0.116	1.930	99.282
5	0.024	0.408	99.69
6	0.019	0.310	100

表4 主成分分析因子载荷

Table 4 Factor loading of principal components

	主成分 Principal component		
	1	2	3
叶面积 Leaf area	0.954	0.249	-0.031
周长 Leaf perimeter	0.940	-0.124	-0.263
叶宽 Leaf Width	0.511	0.835	0.109
叶长 leaf length	0.764	-0.134	0.615
叶长宽比 Ratio of length to width	0.179	-0.884	0.422
形状系数 Shape coefficient	-0.524	0.548	0.620

表5 春梢和秋梢叶片的总黄酮含量

Table 5 Content of total flavonoids in leaves of spring and autumn shoots

	春梢 Spring shoot	秋梢 Autumn shoot
佛奥 Frantoio	6.98 ± 1.65ab	7.06 ± 1.27abc
钟山 24 号 Zhongshan 24	7.09 ± 5.03ab	3.71 ± 1.32ab
豆果 Arbequina	6.39 ± 1.37ab	2.64 ± 0.35a
科拉蒂 Coratina	8.36 ± 7.05ab	8.77 ± 5.78bc
埃蒙 Empetry	7.20 ± 1.55ab	5.67 ± 4.00abc
皮削利 Picholine	6.22 ± 4.65ab	9.61 ± 2.11d
卡林 Kalinjot	3.02 ± 2.10a	5.25 ± 0.39abc
小苹果 Manzanlia	6.03 ± 3.18ab	5.60 ± 1.42abc
莱星 Leccion	7.05 ± 0.54ab	6.56 ± 0.62abc
鄂植 8 号 E'zhi 8	11.03 ± 5.57c	9.52 ± 3.93d

异显著; ‘佛奥’、‘卡林’、‘小苹果’、‘莱星’和‘埃蒙’、‘豆果’间无显著差异, ‘科拉蒂’和‘豆果’存在显著差异, ‘皮削利’和‘鄂植 8 号’无显著差异, 且与其他 8 个品种存在显著差异。

相关分析表明(表 6), ‘科拉蒂’叶片的总黄酮含

量与叶面积和叶长呈显著负相关; ‘钟山 24 号’的与叶面积存在极显著负相关, 表明随叶面积、叶长的增加, 总黄酮含量下降; ‘鄂植 8 号’的与叶面积存在显著正相关, ‘埃蒙’的与形状系数存在极显著正相关, 表明含量随叶面积或形状系数的增加而上

表 6 油橄榄叶片性状与总黄酮含量的相关性

Table 6 Correlation between leaf characters and content of total flavonoids in *Olea europaea*

	叶面积 Leaf area	周长 Perimeter	宽度 Width	长度 Length	长宽比 Ratio of length to width	形状系数 Shape coefficient
‘小苹果’ ‘Manzalia’	-0.506	-0.058	-0.543	0.303	0.669	-0.579
‘科拉蒂’ ‘Coratina’	-0.853*	-0.640	-0.650	-0.885*	-0.040	-0.583
‘鄂植 8 号’ ‘E’zhi 8’	0.815*	0.503	0.543	0.596	-0.030	0.154
‘埃蒙’ ‘Empetry’	0.667	-0.308	0.567	-0.155	-0.395	0.959**
‘佛奥’ ‘Frantoio’	0.139	0.209	0.050	0.037	-0.048	-0.151
‘卡林’ ‘Kalinjot’	0.544	0.671	0.461	0.389	0.280	-0.763
‘钟山 24 号’ ‘Zhongshan 24’	-0.996**	-0.904	-0.838	-0.819	0.037	-0.093
‘皮削利’ ‘Picholine’	0.544	0.655	-0.336	-0.422	0.761	-0.785
‘莱星’ ‘Leccion’	0.029	0.382	0.229	-0.667	-0.542	-0.350
‘豆果’ ‘Arbequina’	-0.216	-0.165	-0.488	-0.134	-0.053	0

升；其他品种叶片的总黄酮含量与叶片性状间无显著相关性。

3 结论和讨论

通过对 10 个品种叶片性状进行分析，结果表明性状间的差异均达到显著水平，以‘钟山 24 号’的叶面积最大，‘皮削利’的最小。各性状的变异系数以周长最大，叶面积最小；‘鄂植 8 号’的叶面积变异系数最大，‘莱星’叶长和叶宽的变化较大，‘小苹果’的叶长宽比变化明显，‘埃蒙’的叶片形状变化较大，‘皮削利’的叶片性状最为稳定。

相关分析表明叶片性状间存在极显著或显著相关，且叶片形态的变化更多受到叶长和叶宽的影响，而不是叶片面积。主成分分析结果表明，油橄榄叶片性状中前 3 个主成分的累积贡献率为 97.35%，能够代表叶片性状的全部信息，形状系数和叶长是决定叶片性状的主要因素。

油橄榄叶片总黄酮含量为 $0.07\sim0.39 \text{ mg g}^{-1}$ ，品种间存在显著差异，体现为春梢含量总体高于秋梢。‘皮削利’、‘豆果’、‘钟山 24 号’和‘卡林’春秋梢叶片含量差异较大，‘佛奥’的最小；‘鄂植 8 号’和‘科拉蒂’的春秋梢叶片总黄酮含量较高，具有较好的开发价值；‘皮削利’的秋梢好于春梢；春梢中‘卡林’总黄酮含量最小，为 3.02 mg g^{-1} ，秋梢中‘豆果’的最低，为 2.64 mg g^{-1} 。本研究结果高于与前人报道的 1.0 mg g^{-1} ^[22] 和 3.2 mg g^{-1} ^[23]，但低于青钱柳 (*Cyclocarya paliurus*)^[26]，与银杏 (*Ginkgo biloba*) 的持平^[27]。目前油橄榄叶片综合利用开发在国内还处于试验阶段，但国外的开发较为成熟，橄榄叶片粉末或提取物，广泛用于保健、医药和化妆品行业^[28]。

油橄榄春梢叶片总黄酮含量除‘鄂植 8 号’外品种间无显著差异，秋梢的品种间差异显著，可能是春梢生长周期长，总黄酮含量在品种间的差异逐渐缩小，而‘鄂植 8 号’则因生长旺盛，与其他品种存在显著差异。秋梢的叶片则可能因生长周期短，品种间总黄酮产生机制存在差异，从而表现出总黄酮含量的品种差异性。‘豆果’叶片春秋梢的总黄酮含量存在显著差异，且秋梢高于春梢，可能是秋梢新叶中总黄酮合成较快，含量提升明显。李向婷等^[23]认为冬季叶片总黄酮含量最高，本研究中大部分品种与其相符，但部分品种受自身遗传特性影响，总黄酮含量变化与之相反，如‘皮削利’和‘豆果’。这可能是叶片受采摘时间和位置的影响，含量变化出现差异。‘科拉蒂’、‘钟山 24 号’、‘埃蒙’和‘鄂植 8 号’的总黄酮含量与叶面积存在显著和极显著的正相关或负相关关系，说明总黄酮含量变化受到叶片生长的影响。

随着橄榄油消费市场的兴起，促进油橄榄在国内种植面积的不断扩大，由最初局部地区，逐渐扩散到南方各省，但由于品种、气候和土壤等多种因素影响，果实产量上往往达不到预期要求，制约油橄榄种植范围的扩大。本研究结果表明，油橄榄品种间叶片次生代谢物含量差异及其与叶形的关系，说明油橄榄不仅果实具有较高价值，叶片也可以作为一种经营模式的选择，可以由传统果用为主，转变为果叶兼用或者叶用为主，提高油橄榄种植园的经济效益；同时通过对废弃物的综合利用，可降低油橄榄叶片内化合物成分所导致的农业面源污染，使其兼具生态和经济意义。本研究只是对局部地区油橄榄叶片总黄酮含量及叶片性状进行分析，对于环境、土壤和营养等因素的影响还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] XU W Y. Germplasm Resource and Utilization of Olive in China [M]. Changchun: Changchun Press, 2001: 1–300.
徐伟英. 中国油橄榄种质资源与利用 [M]. 长春: 长春出版社, 2001: 1–300.
- [2] WANG C Z, CHEN Q, LUO J J, et al. Development and industrial prospect of China olive [J]. Biomass Chem Eng, 2013, 47(2): 41–46. doi: 10.3969/j.issn.1673-5854.2013.02.009.
王成章, 陈强, 罗建军, 等. 中国油橄榄发展历程与产业展望 [J]. 生物质化学工程, 2013, 47(2): 41–46. doi: 10.3969/j.issn.1673-5854.2013.02.009.
- [3] DENG M Q, YU N. The Cultivation Technology of Introduced *Olea europaea* L. [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 1–326.
邓明全, 俞宁. 油橄榄引种栽培技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 1–326.
- [4] BOGGIA R, ZUNIN P, LANTERI S, et al. Classification and class-modeling of “Riviera Ligure” extra-virgin olive oil using chemical-physical parameters [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(8): 2444–2449. doi: 10.1021/jf011289m.
- [5] WŁASIUŁ P, MARTYNA A, ZADORA G. A likelihood ratio model for the determination of the geographical origin of olive oil [J]. Anal Chim Acta, 2015, 853: 187–199. doi: 10.1016/j.aca.2014.10.022.
- [6] D'IMPERIO M, DUGO G, ALFA M, et al. Statistical analysis on Sicilian olive oils [J]. Food Chem, 2007, 102(3): 956–965. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.03.003.
- [7] CHEHADE A, BITAR A E, KADRI A, et al. *In situ* evaluation of the fruit and oil characteristics of the main Lebanese olive germplasm [J]. J Sci Food Agric, 2016, 96(7): 2532–2538. doi: 10.1002/jsfa.7373.
- [8] GURDENIZ G, OZEN B, TOKATLI F. Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy [J]. Eurp Food Res Technol, 2008, 227(4): 1275–1281.
- [9] ZHU W Z, FAN J R, PENG J G, et al. Analysis of the oil content and its fatty acid composition of fruits for introduced olive cultivars in Sichuan Province [J]. Sci Silv Sin, 2010, 46(8): 91–100. doi: 10.11707/j.1001-7488.20100814.
朱万泽, 范建容, 彭建国, 等. 四川省油橄榄引种品种果实含油率及其脂肪酸分析 [J]. 林业科学, 2010, 46(8): 91–100. doi: 10.11707/j.1001-7488.20100814.
- [10] SALVADOR M D, ARANDA F, GÓMEZ-ALONSO S, et al. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: A study of five crop seasons [J]. Food Chem, 2003, 80(3): 359–366. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00273-X.
- [11] XIE P J, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Analysis and determination of nutrient compositions of olive leaves [J]. Chem Ind For Prod, 2014, 34(4): 97–101. doi: 10.3969/j.issn.0253-2417.2014.04.016.
谢普军, 黄立新, 张彩虹, 等. 佛奥油橄榄叶营养成分测定与分析 [J]. 林产化学与工业, 2014, 34(4): 97–101. doi: 10.3969/j.issn.0253-2417.2014.04.016.
- [12] BOUAZIZ M, GRAYER R J, SIMMONDS M S J, et al. Identification and antioxidant potential of flavonoids and low molecular weight phenols in olive cultivar *Chemlali* growing in Tunisia [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(2): 236–241. doi: 10.1021/jf048859d.
- [13] MECHRI B, TEKAYA M, CHEHEB H, et al. Accumulation of flavonoids and phenolic compounds in olive tree roots in response to mycorrhizal colonization: A possible mechanism for regulation of defense molecules [J]. J Plant Physiol, 2015, 185: 40–43. doi: 10.1016/j.jplph.2015.06.015.
- [14] KIOKIAS S, VARZAKAS T, OREOPOULOU V. *In vitro* activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems [J]. Crit Rev Food Sci Nutri, 2008, 48(1): 78–93. doi: 10.1080/10408390601079975.
- [15] BENAVENTE-GARCÍA O, CASTILLO J, LORENTE J, et al. Radio-protective effects *in vivo* of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves against X-ray-induced chromosomal damage: Comparative study versus several flavonoids and sulfur-containing compounds [J]. J Med Food, 2002, 5(3): 125–135. doi: 10.1089/10966200260398152.
- [16] FEHRI B, AIACHE J M, MRAD S, et al. *Olea europaea* L.: Stimulant, anti-ulcer and anti-inflammatory effects [J]. Boll Chim Farm, 1996, 135(1): 42–49.
- [17] PAIVA-MARTINS F, PINTO M. Isolation and characterization of a new hydroxytyrosol derivative from olive (*Olea europaea*) leaves [J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(14): 5582–5588. doi: 10.1021/jf800698y.
- [18] PAIVA-MARTINS F, GORDON M H. Isolation and characterization of the antioxidant component 3,4-dihydroxyphenylethyl4-formyl-3-formylmethyl-4-hexenoate from olive (*Olea europaea*) leaves [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(9): 4214–4219. doi: 10.1021/jf010373z.
- [19] PAPOTI V T, TSIMIDOU M Z. Impact of sampling parameters on the radical scavenging potential of olive (*Olea europaea* L.) leaves [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(9): 3470–3477. doi: 10.1021/jf900171d.
- [20] SOFUOGLU S C, YAYLA B, KAVCAR P, et al. Olive tree, *Olea europaea* L., leaves as a bioindicator of atmospheric PCB contamination [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2013, 20(9): 6178–6183. doi: 10.1007/s11356-013-1640-y.
- [21] PAIVA-MARTINS F, PINTO M. Isolation and characterization of a new hydroxytyrosol derivative from olive (*Olea europaea*) leaves [J]. J

- Agric Food Chem, 2008, 56(14): 5582–5588. doi: 10.1021/jf800698y.
- [22] GAO C X, WANG C Z, CHEN W Y, et al. Analysis of the contents of polyphenols and flavonoids in olive leaf [J]. Biomass Chem Eng, 2006, 40(4): 4–6. doi: 10.3969/j.issn.1673–5854.2006.04.002.
- [23] 高彩霞, 王成章, 陈文英, 等. 油橄榄叶中多酚和黄酮的含量分析 [J]. 生物质化学工程, 2006, 40(4): 4–6. doi: 10.3969/j.issn.1673–5854.2006.04.002.
- [24] LI X T, QING Y, TANG Y M, et al. Study on the season-dynamic variations of the contents of flavonoids in the leaves of three kinds of olives [J]. Hubei Agric Sci, 2011, 50(2): 383–385. doi: 10.3969/j.issn.0439–8114.2011.02.049.
李向婷, 清源, 唐娅梅, 等. 三种油橄榄叶片中黄酮含量的季节动态变化研究 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(2): 383–385. doi: 10.3969/j.issn.0439–8114.2011.02.049.
- [25] TABERA J, GUINDA Á, RUIZ-RODRÍGUEZ A R, et al. Counter-current supercritical fluid extraction and fractionation of high-added-value compounds from a hexane extract of olive leaves [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(15): 4774–4779. doi: 10.1021/jf049881+.
- [26] ZHONG D L, HAN S F, DING M. Establishment of determination method for total flavonoids from tomato [J]. Food Sci, 2009, 30(22): 272–274. doi: 10.3321/j.issn:1002–6630.2009.22.063.
- 钟冬莲, 韩素芳, 丁明. 分光光度法测定西红柿中总黄酮含量的方法比较 [J]. 食品科学, 2009, 30(22): 272–274. doi: 10.3321/j.issn:1002–6630.2009.22.063.
- [27] MI L X, SHANGGUAN X C, SHI L X, et al. Studies on the determination and distribution of total flavonoids of *Cyclocarya paliurus* vegetative organs [J]. Acta Agri Univ Jiangxi, 2009, 31(5): 896–900. doi: 10.3969/j.issn.1000–2286.2009.05.024.
米丽雪, 上官新晨, 施利仙, 等. 青钱柳营养器官总黄酮含量测定及分布规律研究 [J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(5): 896–900. doi: 10.3969/j.issn.1000–2286.2009.05.024.
- [28] QIAN D W, JU J M, ZHU L Y, et al. Study on changing rules for total flavonoids and total terpene lactones in *Ginkgo biloba* leaves at different ages of tree and collecting seasons [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2002, 33(11): 1025–1027. doi: 10.3321/j.issn:0253–2670.2002.11.029.
钱大玮, 鞠建明, 朱玲英, 等. 不同树龄银杏叶在不同季节中总黄酮和总内酯的含量变化 [J]. 中草药, 2002, 33(11): 1025–1027. doi: 10.3321/j.issn:0253–2670.2002.11.029.
- [29] de LAURENTIS N, STEFANIZZI L, MILILLO M A, et al. Flavonoids from leaves of *Olea europaea* L. cultivars [J]. Ann Pharm Fr, 1998, 56(6): 268–273.