

元宝枫优质叶用品系选育方式的探讨

任红剑¹, 丰震^{1*}, 安凯¹, 乔谦¹, 司芬芬¹, 叶美静¹, 孙忠奎²

(1. 山东农业大学林学院, 山东泰安 271018; 2. 泰安时代园林科技开发有限公司, 山东泰安 271000)

摘要: [目的]通过对不同系元宝枫叶片形态特点和叶片中6种药用成分含量的分析,为黄酮类、酚类化合物的定性定量检测、元宝枫叶茶的开发利用及优良无性系的筛选提供参考。[方法]采用常规方法测定叶片形态指标、超声提取和HPLC法检测叶片药用成分。[结果]叶片形态的变异情况为叶柄长>裂宽>裂长>叶长>叶宽>叶基角,叶片裂宽大都在2~3 cm左右,叶基角除6-1外,都小于180°。叶片中槲皮素、山奈酚、异鼠李素、儿茶素、绿原酸、咖啡酸平均含量分别为2 979.65、1 474.92、268.12、1 380.18、218.28、8.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。元宝枫的叶柄长与绿原酸含量的相关系数是-0.735^{*};鲁红1号母树与其无性繁殖幼树叶药用成分的相关系数达到0.914^{*}。6号系列黄酮类物质含量较高,而1号系列酚类物质含量较高。不同家系、同一家系的不同无性系叶片药用成分也有显著差异。[结论]叶用元宝枫无性系的选育可尝试采用间接选择的育种方式,例如可以通过选择叶柄长来改良绿原酸含量;叶片药用成分含量的幼成相关关系表明元宝枫叶片药用成分含量的早期选择也是可行的;家系内不同无性系叶片药用成分的显著差异揭示了元宝枫家系内选择的必要性;鲁红1号的叶较大、各药用成分含量较高,且秋季叶色变红,可以作为药与赏兼用的优质品系资源。

关键词:元宝枫;无性系;叶片形态;药用成分;叶用品系选育

中图分类号:S792.35

文献标识码:A

文章编号:1001-1498(2017)06-0977-08

Discussion on Breeding Method for Quality Leaf Supply Lines in *Acer truncatum*

REN Hong-jian¹, FEN Zhen¹, AN Kai¹, QIAO Qian¹, SI Fen-fen¹, YE Mei-jing¹, SUN Zhong-kui²

(1. College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China;

2. Tai'an Shidai Technology Development, Limited Company, Tai'an 271000, Shandong, China)

Abstract: [Objective] The morphological characteristics and 6 kinds of medicinal composition of leaves in *Acer truncatum* were analyzed to provide the reference for the qualitative and quantitative detection of flavonoids and phenolic compounds, development and utilization of leaf tea, and selection of superior clones in *A. truncatum*. [Method] The morphological indexes of the leaves were determined by conventional methods. The medicinal constituents of the leaves were detected by ultrasonic extraction and HPLC. [Result] The variability of leaf morphology was petiole length > leaf lobe width > leaf lobe length > leaf length > leaf width > leaf base angle. The leaf lobe width was mostly 2-3 cm. The leaf base-angle was less than 180°, except for No. 6-1. The average contents of quercetin, kaempferol, isorhamnetin, catechin, chlorogenic acid, and caffeic acid in leaves were 2 979.65, 1 474.92, 268.12, 1 380.18, 218.28 and 8.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectively. The correlation coefficient between the petiole length and the chlorogenic acid content in the leaves was -0.735^{*}. The correlation coefficient of two tested leaf medicinal

收稿日期:2016-12-21

基金项目:中央财政林业科技推广示范资金项目“元宝枫新品种苗木繁育及推广”[2016]LKT17号;山东省农业良种工程重大项目“优良花卉和园林绿化植物新品种选育”[2014]96号;山东省农业良种工程项目-“药用树木优质高产新品种改良与示范”鲁科字[2016]191号(2016LZGC014)

作者简介:任红剑(1993—),男(汉族),山东淄博人,硕士,从事园林植物种质资源及遗传育种。E-mail:ren-hongjian@qq.com.

* 通讯作者:丰震(1961—),男(汉族),山东聊城人,教授,从事园林植物遗传育种与园林植物应用。E-mail:fengzn408@qq.com.

materials between mother and its asexual young plants of ‘Luhong No. 1’ was 0.914*. The flavonoids content of No. 6 series were higher than that of the others, while the phenolic content of No. 1 series was higher than that of the others. There were also significant differences of medicinal component content among different families, even different clones in the same family. [**Conclusion**] The indirect selection can be used for breeding leaf supply lines in *A. truncatum*, for example, the chlorogenic acid content of leaves could be improved by selection of petiole length. The selection of higher medicinal content individuals at young age is feasible because of the positive Juvenile-Mature Correlation of leaf medicinal component content. The significant differences of the leaf medicinal composition among clones in the same family reveal that individual plant selection in the family is also necessary. The line ‘Luhong No. 1’ can be considered as high quality strain resource both for medicinal and ornamental usages due to its larger leaf, higher content of medicinal materials, and the red leaf color in autumn.

Keywords: *Acer truncatum*; clons; leaf morphology; medicinal component; breeding method for quality leaf supply lines

近年来有关植物器官的药用功效研究越来越普遍。植物中含有许多有益的药用成分,这些药用成分贮存在其有效部分(根、茎、树皮、叶、花、果实或种子等)内。为此,研究植物有效部分的结构与其主要药用成分积累的关系,具有重要的理论和实践意义^[1]。植物有益成分的研究有许多,如杜仲作为茶叶被开发利用,具有调节血压,恢复血管弹性,保护心脑血管的作用,李慧等人用超声提取法提取新鲜杜仲叶中的绿原酸^[2];西南大学对蜡梅属植物的叶、花药用成分及药理性质进行了研究,证明山蜡梅叶中生物碱类成分既具有良好的抗菌消炎等作用,又具有明显的毒理作用,还证实了蜡梅属鲜花的黄酮类物质具有良好的体外清除自由基的功效^[3]。所以在对植物有效部分中药用成分的研究,试验材料丰富,研究成果众多。

元宝枫 (*Acer truncatum* Bunge) 为槭树科 (*Aceraceae*) 槭树属 (*Acer*) 植物,因翅果酷似中国古代金锭(元宝)而得名,在国内广泛分布。自上世纪70年代初,元宝枫开始作为经济树种被研究。研究表明其叶片中富含多种生物活性成分,如黄酮、绿原酸等,具有较高的开发利用价值;更是在2009召开的中国茶叶科技创新与产业发展学术研讨会上指出元宝枫叶适宜开发功能性的饮品^[4]。现如今槭树类植物的应用越来越广泛,有关该类植物的良种繁殖培育和苗圃建设^[5]工作迫在眉睫。元宝枫叶内黄酮类物质种类繁多^[6],黄酮类化合物具有消炎和抗过敏的功效^[7]。文献资料^[8]中对元宝枫叶片中茶多酚类物质进行提取检测研究的报道也屡见不鲜,证实了其含有各种酚类物质,如儿茶素、绿原酸等。茶多酚类的物质^[9]可以有效地清除氧自由基和脂类自由基,预防脂质过氧化,而且具有抑制肿瘤发

生、延缓衰老等功能^[10];茶多酚已经被鉴定为对氧化应激和细胞侵袭的有益作用的分子,且具有抗癌作用^[11]。

本研究以各无性系元宝枫和其原株的叶片为研究对象,首先对不同品系叶片形态指标进行测定,比较分析其形态差异。然后通过超声提取其药用成分后经过HPLC检测,得到各品系元宝枫叶片中6种药用成分的含量与株系间的关系,探究叶片形态与药用成分间、幼年植株和母株间的相关性分析,以期元宝枫无性系资源的开发利用提供科学依据,为阐明各无性系叶片的药理活性奠定基础,为以后开发无性系元宝枫叶茶及叶用优良无性系的筛选提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

游标卡尺;量角器。

普析EX1600型高效液相色谱仪;紫外双波长检测器;恒温水浴锅;KQ2200DE型数控超声波清洗器;Thermo Scientific Micro CL17R冷冻型微量台式离心机。

1.2 植物材料

试验所用材料取自山东农业大学南校区试验田及农大校本部校园内,其中1-1、1-6、1-7、1X-3、1X-6、5-4、6-1等7组材料均为嫁接繁殖的元宝枫无性系;还有鲁红1号(幼树和原株),共9组试验材料。叶片于2016年夏季初采集并进行测定。

试验材料情况说明:在多年野外调查的基础上,选出了11个单株,鲁红1号和5号、6号是其中3个形态及秋季叶色差异显著的单株,以鲁红1号为例,首先从鲁红1号母树单独采种、播种育苗形成1号

家系,从1号家系中又选出1-1、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1X-1、1X-2、1X-3、1X-4、1X-5、1X-6等子代超级苗单株,而本试验中1-1、1-6、1-7、1X-3、1X-6这些系号的植株是对上述超级苗单株嫁接繁殖得到的5年生无性系苗;5-4、6-1同样也是经上述过程而来。鲁红1号幼树是对

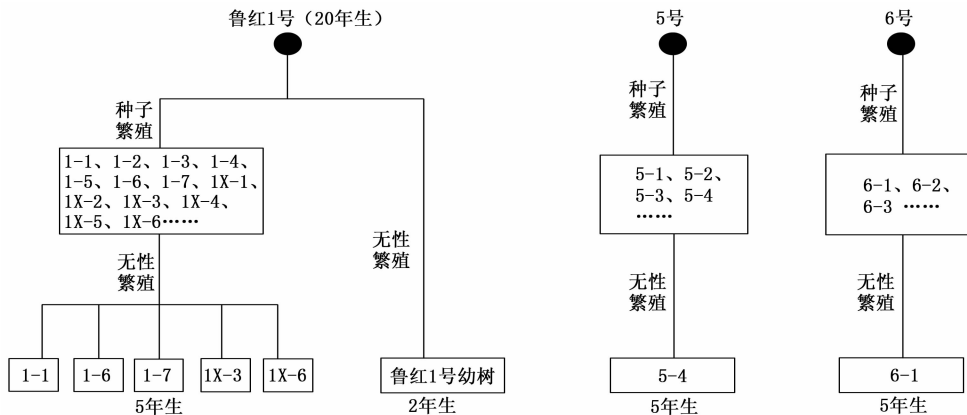


图1 试验材料的培育繁殖方式及流程

Fig. 1 Breeding method and flow of test material

标样:槲皮素、山奈酚、异鼠李素、绿原酸、儿茶素、咖啡酸;(纯度:≥98.5%,均购于上海麦克林生化科技有限公司)。

试剂:高效液相色谱(HPLC)分析用甲醇、乙酸为色谱纯;试验用水为超纯水,提取用试剂均为分析纯。

1.3 叶片形态指标测定

从每个品系中随机选取10株植株,在每株树东南西北不同方位的枝条中部(长枝上第3、4、5对叶)采摘100片叶,从中选择完好无损的20片,用游标卡尺测量每片叶的长宽及裂长宽和叶柄的长度,用量角器测量叶基角的度数,汇总后计算平均值。

1.4 样本药用成分提取

1.4.1 总黄酮的提取 每份样本精确称取0.2 g,在研钵中加甲醇:25%盐酸水溶液(V:V=7:1)混合液1.5 mL研磨匀浆,80℃水浴水解1.5 h后取出,超声提取30 min后10 000 g离心10 min后取上清,取适量溶液用针头式过滤器过滤于带有内衬管的样品瓶内待测。

1.4.2 茶多酚的提取 精确称取每份样本0.2 g,在研钵中加80%的乙醇溶液1.5 mL研磨匀浆,匀浆液超声提取1 h后10 000 g离心10 min后取上清,取适量溶液用针头式过滤器过滤于带有内衬管的样品瓶内待测。

鲁红1号母株大树嫁接而得到的2年生无性系苗。嫁接所用的砧木是课题组播种繁殖的同批次元宝枫实生苗,种子采自山东农业大学校园15年生以上的元宝枫大树。本研究所用试材的系谱关系清楚(详见图1)。

1.5 有效成分的HPLC检测

1.5.1 槲皮素、山奈酚、异鼠李素的检测 有关3种黄酮类成分的检测是根据赵文华^[12]等人的研究而进行:色谱柱C18(4.6 nm×250 mm,5 μm);设置进样量10 μL,流速0.8 mL·min⁻¹,柱温30℃,波长360 nm,走样时间为30 min,设置完毕保存方法;之后用流动相过柱子,流动相比比例为甲醇:1%乙酸水(60:40),待基线稳定后开始加样。

加入标准品10 μL,在20 min内可分离标准品,计算不同浓度的标准品的峰面积。下一步加入样品10 μL,在相应保留时间处检测峰面积。

1.5.2 绿原酸、儿茶素、咖啡酸的检测 有关3种酚类物质的检测是对吕海涛^[13]等人的试验改进后测定:色谱柱C18(4.6 nm×250 mm,5 μm);设置进样量10 μL,流速1 mL·min⁻¹,柱温30℃,波长280 nm,走样时间为60 min,设置完毕保存方法;之后用流动相过柱子,待基线稳定后开始加样(梯度洗脱程序见下表1);下一步加入样品10 μL,在相应保留时间处检测峰面积。

1.5.3 标准样品分离检测 在确定的最佳分离条件下,配制不同浓度的3种黄酮类物质及3种酚类物质等标准混合溶液分别进行测定,每个样品重复3次,根据每个浓度下黄酮类、酚类物质的峰面积A对浓度c做线性回归,其线性范围、回归方程、相关性系数、保留时间等(见表3),每种物质在其线性范

表1 HPLC 酚类检测流动相洗脱程序

Table 1 HPLC phenols detection of mobile phase elution procedures

梯度时间 Gradient time /min	流动相 Mobile phase	
	1% 乙酸水 1% Acetic acid water/%	甲醇/ Methanol/%
0	95	5
40	70	30
40.1	0	100
50	0	100
50.1	95	5
60	95	5

围内都有很好的线性关系, 相关系数均高于 0.990。

1.6 数据统计与分析

利用 N2000 色谱工作站连续记录各个峰的峰面

表2 标准样品回归分析

Table 2 Regression analysis of standard samples

化学物质 Chemical substances	线性范围 Linear range/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回归方程 Regression equation	相关性系数 Correlation coefficient	保留时间 Retention time/min
槲皮素 Quercetin	4.17 ~ 500	$y = 31.59x + 60.61$	$R^2 = 0.999$	9.950
山奈酚 Kaempferol	4.17 ~ 500	$y = 19.47x - 12.96$	$R^2 = 0.998$	15.380
异鼠李素 Isorhamnetin	1.04 ~ 25	$y = 57.46x + 35.59$	$R^2 = 0.999$	16.270
儿茶素 Catechins	1.56 ~ 250	$y = 6.103x + 9.036$	$R^2 = 0.999$	29.60
绿原酸 Chlorogenic acid	1.56 ~ 250	$y = 47.69x + 8.722$	$R^2 = 0.999$	35.10
咖啡酸 Caffeic acid	1.56 ~ 250	$y = 10.39x - 86.37$	$R^2 = 0.990$	36.80

表3 不同品系元宝枫叶片性状表现及差异

Table 3 Leaf traits of different strains of maple leaf performance

系号 Strains	叶长 Leaf length /cm	叶宽 Leaf width /cm	裂长 Leaf crack length /cm	裂宽 Leaf crack width /cm	叶柄长 Leaf petiole length /cm	叶基角 Leaf base angle /°
1-1	6.16	9.15	3.93	2.24	5.77	139.68
1-6	7.51	10.12	5.15	2.57	6.50	138.13
1-7	8.22	8.99	5.06	2.13	6.05	141.37
1X-3	5.82	7.90	3.97	2.21	4.53	147.10
1X-6	5.91	8.17	4.53	1.76	4.74	125.92
5-4	7.14	9.99	6.23	3.32	8.36	138.79
6-1	6.78	9.51	4.43	2.16	8.98	181.68
鲁红1号(幼)	5.23	7.35	3.10	1.71	3.28	112.25
鲁红1号	8.20	11.72	6.07	2.80	5.05	141.00
标准偏差	1.07	1.33	1.02	0.51	1.83	18.57
平均值	6.77	9.21	4.72	2.32	5.92	140.66
变异系数	0.16	0.14	0.22	0.23	0.31	0.13

叶片性状的变异系数最大的是叶柄长, 说明叶柄有丰富的变异潜力, 裂长、裂宽变异系数也较高, 这证明有可能会出现新的叶形, 其次变异情况为叶长 > 叶宽 > 叶基角。各品系间叶片形态差异最小的是裂宽, 最大的是叶基角(量角器测量误差较大)。

积, 采用面积外标法计算 6 种药用成分的平均含量; 使用 SPSS22、Excel 软件计算指标平均值、标准差、变异系数等, 利用 Pearson 相关系数分析各指标间的相关性, 并绘制不同品系间药用成分含量的比较图。

2 结果与分析

2.1 不同试材元宝枫叶片形态表现及差异

每组试材元宝枫叶片形态具有明显差异(见表 2), 叶长最大值: 8.20 cm(鲁红 1 号), 叶宽最大值是 9.99 cm(5-4)。裂长方面各品系间差异较大, 范围在 3.10 ~ 6.23 cm, 9 组试材的叶片裂宽大都在 2 ~ 3 cm。由于量角器的测量误差, 叶基角除 6-1 外, 都小于 180°。

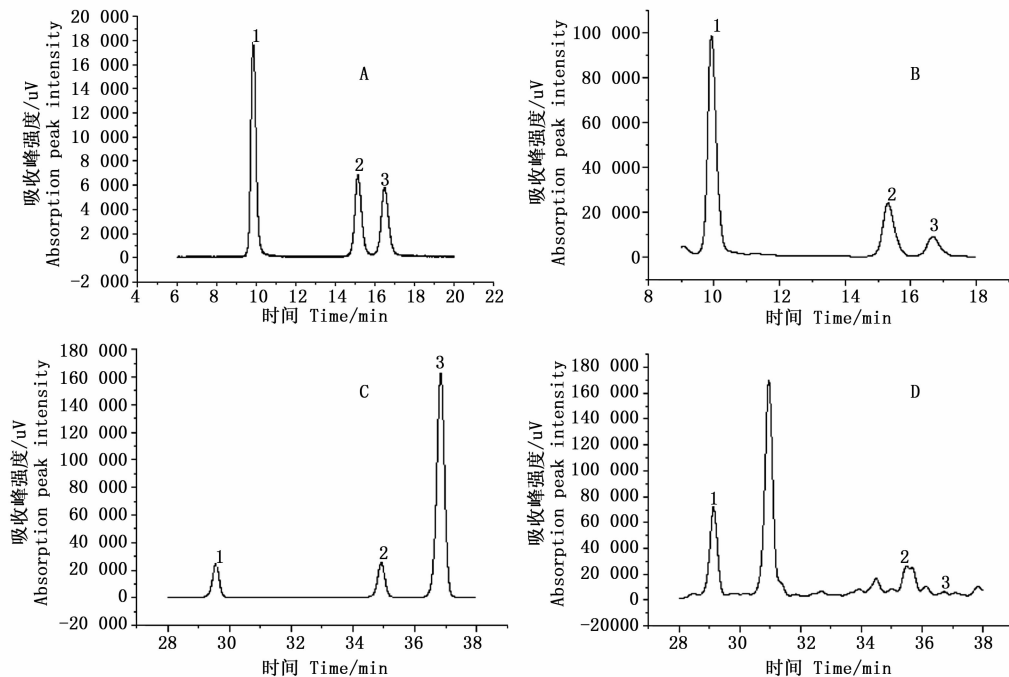
2.2 不同试材元宝枫叶片 6 种药用成分检测结果

2.2.1 不同试材元宝枫叶片 3 种黄酮类物质检测图谱 经上述色谱条件, 与标准品混合溶液色谱图(见图 2A)比较, 元宝枫样品中槲皮素、山奈酚和异鼠李素色谱峰(见图 2B)分别与其他成分分离良好。3 种黄酮类成分能完全基线分离, 色谱峰形尖锐, 分离度较大。3 种成分出峰时间为: 槲皮素 9.95 min、山奈酚 15.380 min、异鼠李素 16.270 min; 标样混合溶液与叶片提取液中 3 种成分出峰面积大小关系相同, 都是槲皮素 > 山奈酚 > 异鼠李素。

2.2.2 不同品系元宝枫叶片 3 种酚类物质检测图谱 通过以上对酚类物质的检测条件分析, 和标准品混合溶液色谱图(见图 2C)比较, 根据保留时间和色谱峰的比对, 不同试材元宝枫样品中测得了 3 种对应的单体酚类物质, 分别为儿茶素、绿原酸和咖啡酸, 3 种酚类成分能够得到良好的分离(见图 2D)。3 种成分出峰时间为: 儿茶素 29.60 min、绿原酸 35.10 min、咖啡酸 36.80 min。

2.3 元宝枫叶片中 6 种药用成分含量及差异

根据元宝枫叶片样本中 6 种成分的物质含量平均值(见表 4), 得到其含量区间: 槲皮素 1 725.56 ~



注:A、B中1为槲皮素,2为山奈酚,3为异鼠李素;C、D中1为儿茶素,2为绿原酸,3为咖啡酸。

Note: In A and B, 1 is quercetin, 2 is kaempferol, 3 is isorhamnetin. In C and D, 1 is catechins, 2 is chlorogenic acid, and 3 is caffeic acid

图2 黄酮、酚类化合物混合对照品和元宝枫叶片黄酮、酚类提取液的HPLC-UV图谱

Fig.2 Flavonoids,phenolic compounds mixed reference and extract flavonoids,phenolic compounds from *Acer truncatum* leaves of HPLC-UV spectrum

4 225.22 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,该物质含量最高的鲁红1号(幼),1X-6含量最低;山奈酚563.51~2 641.75 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,鲁红1号、鲁红1号(幼)、1-6等3组试材含量较高,都超过了2 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;异鼠李素28.73~742.88 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,各试材之间差异明显,含量最高的1-1:742.87 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,而最低含量的5-4只有28.73 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;儿茶素430.87~3 182.10 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,该9组试材当中儿茶素是3种酚类物质中含量最为丰富的,有6组试材含量超过了1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;绿原酸83.75~355.42 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,其中有5组试材含量约为200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,差异较小;咖啡酸0.77~22.06 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,是6种药用成分中含量最小的。

测定结果表明,各组试材元宝枫叶片间6种药用成分的差异较大。槲皮素含量的平均值在3 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,其含量高于均值的品系有鲁红1号(幼)、鲁红1号、1-1、6-1等4组试材,差异较小。山奈酚的平均值为1 474.92 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,但其中小于均值的品系达到6种之多,差异较大且大都含量偏低。异鼠李素是3种黄酮类成分含量最低的,含量最高的系号1-1是含量最低系号5-4的26倍。儿茶素是3种酚类物质含量最高的,最大值出自鲁红1号,有6组试材的含量都超过了1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。由

表4 不同品系元宝枫叶片样品6种药用成分含量及差异

Table 4 6 kinds of medicinal components in different strains of *Acer truncatum* samples

系号 Strains	($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)					
	槲皮素 Quercetin	山奈酚 Kaempferol	异鼠李素 Isorhamnetin	儿茶素 Catechins	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid
1-1	3 648.67	950.50	742.88	2 306.92	218.44	5.61
1-6	2 589.00	2 217.57	340.74	760.09	248.81	22.06
1-7	2 285.91	700.68	137.75	430.87	232.53	4.00
1X-3	2 268.25	563.51	422.38	1 546.45	355.42	3.06
1X-6	1 725.56	1 460.32	127.70	1 038.11	268.97	9.07
5-4	2 565.76	978.21	28.73	600.55	83.75	0.77
6-1	3 443.62	1 389.72	44.52	1 106.21	135.59	11.96
鲁红1号(幼)	4 225.22	2 372.04	319.67	1 450.29	251.96	4.94
鲁红1号	4 064.84	2 641.75	248.70	3 182.10	169.05	11.67
最大值	4 225.22	2 641.75	742.88	3 182.10	355.42	22.06
最小值	1 725.56	563.51	28.73	430.87	83.75	0.77
平均值	2 979.65	1 474.92	268.11	1 380.18	218.28	8.13
标准差	835.06	720.89	211.22	831.59	75.28	6.11

于采摘时间的原因,绿原酸各品系间含量较低,有5个品系含量都在200~250 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间差异不显著。各品系元宝枫叶片中的咖啡酸较低,系号1-6含量最高为22.06 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.4 元宝枫叶片中的相关性分析

2.4.1 叶片形态与药用成分、6种药用成分之间的相关性分析 元宝枫叶片的形态性状与6种药用成分的相关性检验结果(见表5),结果显示元宝枫叶片形态中叶柄长与叶片中绿原酸的含量呈显著负相关, Pearson 相关性系数是 -0.735。这表明在根据

元宝枫叶柄的长度,可简单推测出其中绿原酸含量的高低,简单快速。叶柄越长,绿原酸含量越低,反之,绿原酸含量越高。但是6种药用成分之间的关系并不显著,正相关性最高的槲皮素和儿茶素之间的 Pearson 相关性系数为 0.651。

表5 叶片形态与药用成分间、6种药用成分之间的相关性分析

Table 5 Correlation analysis among leaf morphological characteristics and medicinal composition, Correlation analysis among 6 kinds of medicinal components

项目 Item	槲皮素 Quercetin	山奈酚 Kaempferol	异鼠李素 Isorhamnetin	儿茶素 Catechins	绿原酸 Chlorogenic acid	咖啡酸 Caffeic acid
叶长 Leaf length	-0.061	0.111	-0.337	-0.012	-0.442	0.310
叶宽 Leaf width	0.236	0.361	-0.162	0.366	-0.616	0.431
裂长 Leaf crack length	-0.202	0.089	-0.483	-0.021	-0.607	0.15
裂宽 Leaf crack width	0.009	0.005	-0.198	0.057	-0.631	0.008
叶柄长 Leaf petiole length	-0.137	-0.283	-0.452	-0.383	-0.735*	0.137
叶基角 Leaf base angle	-0.011	-0.310	-0.236	-0.039	-0.341	0.188
槲皮素 Quercetin	1					
山奈酚 Kaempferol	0.574	1				
异鼠李素 Isorhamnetin	0.305	-0.052	1			
儿茶素 Catechins	0.651	0.411	0.512	1		
绿原酸 Chlorogenic acid	-0.313	-0.138	0.474	0.025	1	
咖啡酸 Caffeic acid	0.062	0.608	0.010	0.057	0.027	1

注: * 表示显著相关 $P < 0.05$ 。

Note: * Significant correlation at $P < 0.05$

2.4.2 不同试材间药用成分的相关性分析及幼成相关 因为1号系列和鲁红1号、鲁红1号(幼)之间存在亲缘关系,所以它们之间相关性系数较高(见表6),存在显著相关关系甚至是极显著相关的关系,其中1-1和1X-3间呈极显著正相关,相关系数达到0.993,是任一两组试材中相关性最高的一

组。9组试材之间药用成分相关性颇高,不存在任何负相关性。但是,5号、6号系列与1号系列没有亲缘关系,有的系号之间相关性也颇高,例如6-1和鲁红1号(幼)之间极显著正相关;5-4与6-1的 Pearson 相关性系数是0.996,这证明不同单株间元宝枫叶片中该6种药用成分变化趋势较为相似。

表6 不同试材叶片中6种药用成分之间的相关性分析

Table 6 Correlation analysis among different samples of leaves of 6 kinds of medicinal components

系号 Strains	1-1	1-6	1-7	1X-3	1X-6	5-4	6-1	鲁红1号(幼)	鲁红1号
1-1	1								
1-6	0.717	1							
1-7	0.874*	0.862*	1						
1X-3	0.993**	0.680	0.857*	1					
1X-6	0.807	0.952**	0.826*	0.791	1				
5-4	0.885*	0.907*	0.990**	0.863*	0.886*	1			
6-1	0.912*	0.905*	0.979**	0.893*	0.910*	0.996**	1		
鲁红1号(幼)	0.873*	0.959**	0.954**	0.847*	0.951**	0.983**	0.988**	1	
鲁红1号	0.908*	0.847*	0.802	0.898*	0.957**	0.863*	0.902*	0.914*	1

注: * 表示显著相关 $P < 0.05$, ** 表示极显著相关 $P < 0.01$ 。

Note: * Significant correlation at $P < 0.05$, ** Highly significant correlation at $P < 0.01$.

分析母株与无性繁殖后的幼树间药用成分的相关性,以鲁红1号和鲁红1号(幼树)为例,两者 Pearson 相关性系数达到0.914,呈显著正相关。表明两者药用成分的含量相同,这种幼成相关关系,有

利于早期选择,即可在元宝枫育苗地里对2年生幼苗开展叶片药用成分的早期选择;反之,在发现表现优良的成年单株后,可经过快速的无性繁殖后获得大量植株,实现早期丰产。

2.5 优质叶用元宝枫的选择

由以上9组试材的测定结果显示,在叶形方面,鲁红1号叶长达到8.20 cm、宽为11.72 cm,叶形较大,这在实际生产当中表明这个系号的叶片产品产量较高,药用成分含量分析后,只有鲁红1号(幼)(除咖啡酸外)各项指标含量都高于平均值;鲁红1号只有异鼠李素含量低于平均值,且酚类物质含量最高儿茶素含量尤为明显,达到 $3\ 182.30\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。鲁红1号叶色秋季变红,色彩靓丽,如果再作为药品或饮品等开发的话,叶形与药用成分含量两因素综

合考虑,它应被作为优质种质资源。

2.6 不同母株后代间植株差异

鉴于各组试验材料的亲缘关系,笔者把1-1、1-6、1-7、1X-3、1X-6这5个系号的每种药用成分含量的平均值与5-4、6-1分为三类进行比较。结果显示(见图3),6-1号中槲皮素、山奈酚含量最高,说明6号系列黄酮类物质含量丰富,而该系号是秋叶变黄的系号;1号系类儿茶素、绿原酸高于其他两个系号,说明1号系列酚类成分较多,而该系号秋叶变红。

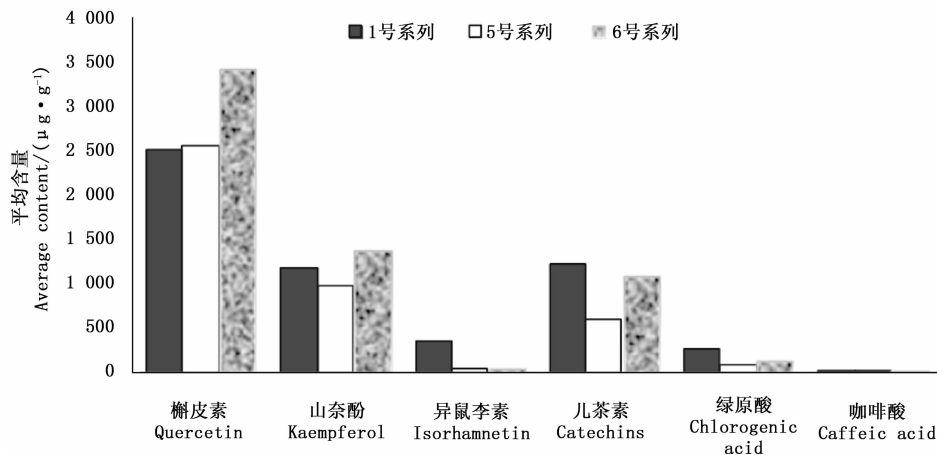


图3 元宝枫不同母株间繁殖后代药用成分含量比较

Fig. 3 Comparisons of contents of medicinal constituents between the progenies of different parent plants of *Acer truncatum*

3 讨论

元宝枫叶片的形态及其药用成分变异丰富,即使来自同一家系的不同无性系也存在显著变异。其叶片中黄酮类、酚类物质含量丰富^[14],包括有丰富的槲皮素、山奈酚、异鼠李素、儿茶素、绿原酸、咖啡酸^[15]等药用成分。赵文华等人曾取同一月份元宝枫叶片测定槲皮素、山奈酚和异鼠李素的含量,结果显示平均含量分别为 3.99 、 1.30 、 $0.548\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$;王兰珍等^[16]运用比色法测得6年生10月份的元宝枫叶中儿茶素含量为 $6.74\ \text{mg}\cdot(100\ \text{g}^{-1})$,本试验材料大都是5年生植株夏季采摘,儿茶素含量较高,平均值在 $1\ 380.18\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;这些人的研究结果与本试验有所差异,这主要是材料基因型的差异导致的,另外也与试验地点、采集月份等因素有关。茶多酚含量的高低与红绿茶的分类有关,茶多酚含量较低证明该单株适制绿茶,茶多酚含量高表明适制红茶^[17],由此可判定元宝枫叶茶适合做红绿茶的种类。

本研究揭示元宝枫叶片形态中叶柄长与叶片中

绿原酸的含量呈显著负相关。植物外观的表型性状和器官内药用成分的研究较少,其中张丰转等对水稻茎秆形态性状和物质成分含量间做过相关性关系^[18],马延华等^[19]探究过玉米茎秆的形态特征和物质成分含量间的相关分析,刘智炫等^[20]对烟草叶片大小等形态指标和其中的烟碱、总氮量也确定了相关性关系。以上都是为提高农作物产量,根据其表观外形的感测大致推断其产量的高低。可有观赏类的木本植物,此类研究较少,该研究成果弥补了该项内容。另外,本研究证实,幼年与成年植株间药用成分的含量相同。林木育种当中,根据生理生化指标与生长性状早晚期相关分析^[21]可以做到有关早期选择的工作;林业产品生产过程中,快速获得单位时间内的遗传增益,提高选择效率,研究性状早晚相关,用幼年期性状值来估计成年期性状值,从而进行性状的早期选择一直是一条行之有效的途径^[22]。这些研究结果揭示今后元宝枫叶用无性系品种的选择育种可以探索间接选择和早期选择的育种方式,从而减少大量的化学测定过程,降低育种成本,提高育种效率,早出育种成果。

无性系 6-1、5-4 以及其他 4 组无性系:1-1、1-6、1-7、1X-3、1X-6 分别属于不同的家系,经过不同母株后代间植株差异比较分析,以及鲁红 1 号和其幼树药用成分间的相关性分析,两者结合,可推测出母株 6 号酚类物质含量丰富,也可通过嫁接等无性繁殖方式快速获得幼苗,提取其中丰富的酚类成分。但由于尚未测定母株 6 号的试验数据,只是理论推测。

元宝枫作为槭树属中的一级类树种,最新研究表明其园林应用价值较高^[23],同样在本试验研究中药用成分含量丰富,尤其以鲁红 1 号为代表,它不仅观赏效果较好,而且叶大、药用成分含量高,应为优质药用与观赏兼用品系资源。当然,虽然本研究的试验材料的谱系清楚准确,有利于阐明株系间以及株系内叶片形态及药用成分的各种关系,对今后叶用元宝枫的株系与株系内选择具有重要的参考价值。但是,毕竟受经费及时间限制,测定的株系数量偏少,6 种药用成分只测定了一次,为了更加深入了解该类药用成分在各时期内的变化^[24],今后应选用更多的株系材料并对整个生长季节进行动态研究。

4 结论

本试验测定了不同品系间元宝枫叶片的形态和其中 6 种药用成分。结果表明:元宝枫叶片中叶柄的变异潜力最为丰富。以鲁红 1 号(幼)和鲁红 1 号为例,探究了植物母株与无性繁殖后代一幼树间药用成分的相关性,如二者呈显著正相关,意味着可以在苗期开展早期选择育种;首次发现元宝枫的叶柄长和叶片中绿原酸的含量呈显著负相关,表明可通过叶柄长度的负向选择来开展叶片高绿原酸含量的单株选择,从而减少药用成分测定的工作量和费用;通过幼年期选择和间接选择旨在提高叶用元宝枫新品种选育效率。鲁红 1 号从叶片形态与物质含量上综合考虑,确立为优质种质资源。该研究工作,在各家系中的不同无性系间展开,为今后元宝枫选择育种提供了充分地遗传基础。

参考文献:

[1] 胡正海. 药用植物的结构、发育与其主要药用成分积累关系的研究[J]. 中国野生植物资源, 2005, 24(1): 8-12.

[2] Hui Li, Bo Chen, Shouzhao Yao, et al. Application of ultrasonic technique for extracting chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* Oliv. (*E. ulmoides*)[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2005, 12: 295-300.

[3] 熊义权, 肖纯, 龙秀娟. 蜡梅属植物叶、花化学成分及药理性质

研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(1): 8-10.

[4] 王海燕, 庞晓莉, 王昕. 元宝槭叶生化成分及枫叶茶开发利用研究进展[J]. 南方农业, 2007, 1(5): 91-92.

[5] 孙景洲. 槭树属彩叶槭树嫁接繁殖技术规程[J]. 现代农业科技, 2016, (19): 157-158.

[6] 王海燕. 元宝槭叶生化特性研究[D]. 昆明, 西南大学, 2008.

[7] Myungsuk Kim, Sun Young Kim, Ahmad Randy, et al. Inhibitory effect of the *Larix sibirica* and its various flavonoids on the IgE-stimulated mast cell activation and anaphylaxis[J]. Journal of Functional Foods. 2016, 27(10): 631-644.

[8] Wu Bi, Ying Gao, Jie Shen, et al. Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of the genus *Acer* (maple): A review[J]. Journal of Ethnopharmacology. 2017, 04(21): 31-60.

[9] 王兰珍, 马希汉, 王姝清, 等. 元宝枫叶总黄酮提取方法研究[J]. 西北林学院学报, 1997, 12(4): 64-67.

[10] 赵保路. 天然抗氧化剂茶多酚的健康作用及其机理[J]. 生物物理学报, 2012, 28(5): 426-437.

[11] Rosaria Arcone, Margherita Palma, Valentina Pagliara, et al. Green tea polyphenols affect invasiveness of human gastric MKN-28 cells by inhibition of LPS or TNF- α induced Matrix Metalloproteinase-9/2[J]. Biochimie Open, 2016, 3(12): 56-63.

[12] 赵文华, 宋晓红, 李珺, 等. 不同季节元宝枫叶中的三种黄酮苷元的含量测定[J]. 中成药, 2005, 27(05): 574-577.

[13] 吕海涛, 孙海峰, 曲宝涵, 等. 高效液相色谱法同时测定苹果汁中 6 种酚类物质[J]. 分析化学, 2007, 35(10): 1425-1429.

[14] 吕居, 李映丽, 王性炎, 等. 元宝枫生药学研究[J]. 经济林研究, 1994(1): 13-21.

[15] Lingguang Yang, Peipei Yin, Ke Li, et al. Seasonal dynamics of constitutive levels of phenolic components lead to alterations of antioxidant capacities in *Acer truncatum* leaves[J]. Arabian Journal of Chemistry. 2017, 1(9): 6-11.

[16] 尉芹, 王兰珍, 马希汉, 等. 元宝枫叶化学成分初步研究[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1996, 22-24.

[17] 韦柳花, 韦静峰, 苏敏, 等. 早生优质绿茶单株的鉴定与评价[J]. 南方农业学报, 2015, 46(7): 1248-1252.

[18] 张丰转, 金正勋, 马国辉, 等. 水稻抗倒性与茎秆形态性状和化学成分含量间相关分析[J]. 作物杂志, 2010(4): 15-19.

[19] 马延华, 孙德全, 李绥艳, 等. 玉米茎皮抗穿刺强度与形态性状和化学成分含量间的相关分析[J]. 黑龙江农业科学, 2012(4): 1-4.

[20] 刘智炫, 周清明, 黎娟, 等. 湖南浓香型烟叶化学成分与物理性状相关性分析[J]. 中国农业科技导航, 2016, 18(1): 129-135.

[21] 杨秀艳, 李孔庶. 林木育种中的早期选择[J]. 世界林业研究, 2004, 17(2): 6-8.

[22] 李火根, 王章荣, 陈天华. 马尾松木材性状幼成过渡年龄及幼成相关[J]. 浙江林学院学报, 1994(1): 33-37.

[23] 赵靖雯, 任杰, 高乾春, 等. 17 种槭树属植物应用价值的综合评价[J]. 安徽农业大学学报, 2016, 43(5): 737-742.

[24] 余诚棋. 青钱柳种子形态特征、苗期性状及叶片化学成分的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2008.